MEDEDEELINGEN

UIT

'S LANDS PLANTENTUIN.

XXVII.

DE NEMATODEN

DER

KOFFIEWORTELS

DOOR

Prof. Dr. A. ZIMMERMANN.

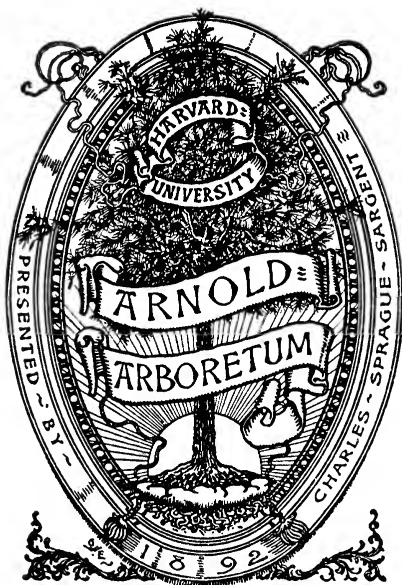
Deel I.

(met 2 platen en 17 figuren in den text).



BATAVIA — 'S GRAVENHAGE
G. KOLFF & Co.
1898.


3 2044 106 344 930


HARVARD UNIVERSITY
ARNOLD ARBORETUM
PRESENTED BY CHARLES SPRAGUE SARGENT
1892

Digitized by the Internet Archive
in 2017 with funding from
BHL-SIL-FEDLINK

https://archive.org/details/denematodenderko27zimm

DE NEMATODEN DER KOFFIEWORTELS.



MEDEDEELINGEN

UIT

'S LANDS PLANTENTUIN.

XXVII.

DE NEMATODEN

DER

KOFFIEWORTELS

DOOR

Prof. Dr. A. ZIMMERMANN.

Deel I.

(met 2 platen en 17 figuren in den text).



BATAVIA — 'S GRAVENHAGE
G. KOLFF & Co.
1898.

INHOUD.

VOORWOORD.

Nadat ik het op grond van de in een voorloopig Rapport (1) medegedeelde opmerkingen voor zeer waarschijnlijk moest houden, dat in de koffietuinen door Nematoden of aaltjes zeer veel schade wordt veroorzaakt, heb ik deze organismen in de meest verschillende richtingen nader onderzocht en geef nu in het volgende eene iets uitvoeriger mededeeling over eenige gedeelten dezer onderzoekingen, en in die volgorde, waarin zij tot eene zekere afsluiting zijn gekomen. Als eerste hoofdstuk geef ik eene korte handleiding voor het gebruik van het microscoop bij zoodanige onderzoekingen. Wanneer men namelijk niet de allerfijnste anatomie der nematoden wil onderzoeken, maar zich tot de voor de praktijk zeker belangrijkste vraag beperkt, of in een verdacht plantendeel aaltjes aanwezig zijn of niet, dan is de hiervoor noodige oefening en ondervinding in betrekkelijk korten tijd te verkrijgen en het is dus zeker wel zeer doelmatig, dat reeds verschillende Heeren Administrateuren tot de aanschaffing van een microscoop hebben besloten. Inzonderheid voor dezen kunnen misschien de navolgende aanwijzingen niet zonder belang zijn. Ik hoop, dat deze ook zonder persoonlijke toelichting er in slagen zullen met behulp der navolgende opgaven de aaltjes in de koffiewortels te vinden. Overigens ben ik gaarne bereid, ook in dit opzicht verdere inlichtingen te geven.

Om teleurstellingen te voorkomen wil ik echter nog uitdrukkelijk opmerken, dat deze aanwijzingen volstrekt niet voldoende zijn voor hen, die zich met andere onderwerpen b. v. met djamoer oepas of dergelijke binnen het plantenlichaam vegeteerende schimmelsoorten willen bezig houden. Voor deze is eene grondige kennis der plantenanatomie en eene zekere oefening in de praeparatie en uitlegging der microscoopische beelden volstrekt noodzakelijk. Hiervoor zoude

(1) Cf. Teysmannia 1897.

ook zeker een persoonlijk onderricht zeer wenschelijk zijn. Voor zelfonderwijs is aantebevelen:

Strasburger, Das kleine botanische Prakticum für Anfänger 2. Aufl., Jena, 1893.

Verder zijn nadere inlichtingen over het gebruik van het microscoop te verkrijgen uit:

Giltay, Inleiding tot het gebruik van den microscoop. Leiden 1885.

Gage, S. H., The Microscope and microscopical Methods. 5 Ed. Ithaca. 1894.

Zimmermann, Das Mikroskop. Wien 1895.

I. KORTE AANWIJZING VOOR HET GEBRUIK VAN HET MICROSCOOP, IN HET BIJZONDER VOOR HET ZOEKEN VAN NEMATODEN.

---

1. De voornaamste onderdeelen van het microscoop en hunne wetenschappelijke benamingen.

Bij de volgende opsomming der verschillende deelen van het microscoop willen wij ons eenvoudigheidshalve aan een bepaald voorbeeld houden en ik heb hiervoor uit naliggende redenen het microscoop gekozen, dat ik op verschillende aanvragen den Heeren Administrateuren heb aanbevolen en dat zich ook reeds in de handen van sommige heeren bevindt. Ik bedoel de combinatie No. 15*a* uit de optische werkplaats van Ernst Leitz in Wetzlar (Vertegenwoordiger voor de Nederlanden: D. B. Kagenaar Utrecht. — Prijs excl. transport: Mark 125.—).

Dit microscoop is voor het bovengenoemde doel zeker volkomen voldoende (1). Men kan dit zelfs met eene nog goedkoopere combinatie (b. v. No. 23, prijs Mk. 70.—) bereiken. Dit instrument is echter veel minder gemakkelijk te hanteeren. Voor het onderzoek van bacteriën en andere fijnere voorwerpen zoude daarentegen natuurlijk eene fijnere en ook betrekkelijk kostbaardere combinatie noodig zijn. Ik ben gaarne bereid aan hen, die zich een zoodanig toestel willen aanschaffen, nadere inlichtingen te geven.

Van de onderdeelen van het microscoop noem ik nu allereerst het *statief*, dat de verschillende gedeelten van het microscoop in samenhang brengt en aan den geheelen toestel de noodige vastheid geeft. Aan het statief bevindt zich in de eerste plaats de *tubus* (t, Fig. 1), die aan zijne beide einden de beide beeldvormende optische systemen, *oculair* (oc) en *objectief* (ob), opneemt.

---

(1) Als werktuigen voor de praeparatie kan ik nog aanbevelen:
Het »etui No. 136 bevattende een scheermes, naalden, pincet enz. (Mark 15.—)
100 »Objectträger" 76 × 26 No. 124 (Mark 3.—).
100 »Deckgläschen" 20 × 20 No. 127 (Mark 3.—).

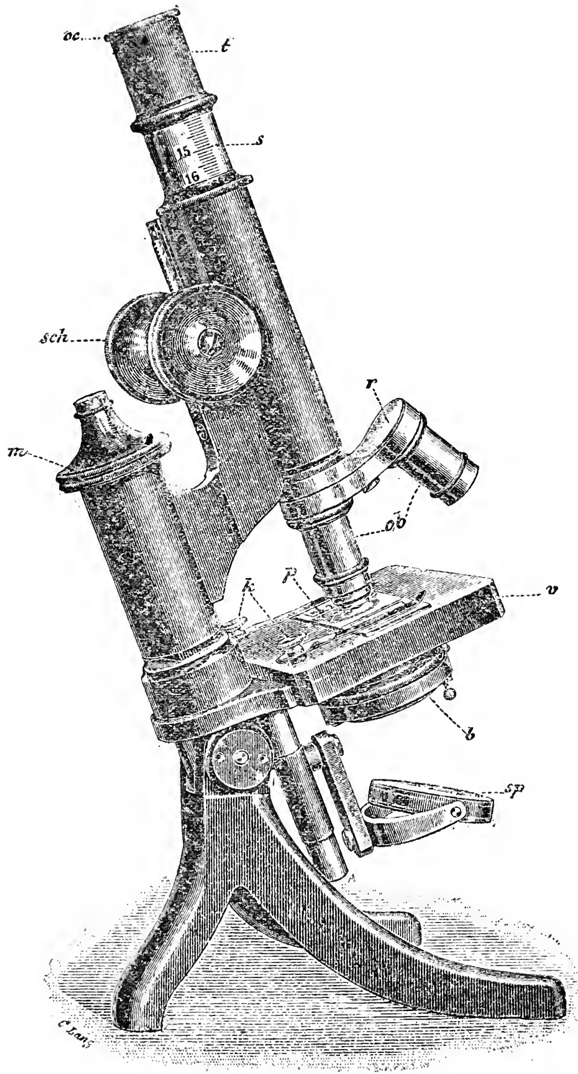


Fig. I. Microscoop van E. Leitz.

Bij onzen toestel kan de tubus door verschuiven van het bovenste gedeelte in het omgevende omhulsel langer en korter worden gemaakt. De werkelijke lengte van den tubus is in ieder geval aan de *schaal* (s) te zien, waarbij echter de door den revolver (r) veroorzaakte verlenging van den tubus niet mede in rekening genomen is.

Om het objectief in den voor de beeldvorming noodigen afstand van het te onderzoeken voorwerp te brengen, wordt de tubus eerst door de met een *tandrad* in samenhang staande schijf sch. in verticale richting verschoven (*grove instelling*). De *fijne instelling* geschiedt door middel van eene *micrometerschroef*, die met den knop m. verbonden is.

Verder bevindt zich aan het statief de *voorwerptafel* (v), waarop het te onderzoeken *praeparaat* (p) gelegd wordt. Inzonderheid wanneer het bovendeel van het microscoop, zooals in onze afbeelding, schuin gesteld is, is het in het algemeen aanteraden het praeparaat door middel van de beide *klemveeren* (k) vast te zetten. Omdat het echter bij het onderzoek van waterdruppels, die voor ons doel het meest in aanmerking komen, doelmatiger is, het bovengedeelte van het microscoop niet uit den verticalen stand te brengen, zal men van de klemveeren slechts bij uitzondering kunnen gebruik maken en daar ze overigens het bewegen van het voorwerp slechts kunnen hinderen, doet men wel, ze van de voorwerptafel te verwijderen en voor eventueel gebruik te bewaren.

Om voorts het praeparaat van beneden te verlichten, bevindt zich onder de voorwerptafel de *spiegel* (sp) welke aan de eene zijde plat en aan de andere hol is. Hij is naar verschillende zijden beweegbaar en kan ook hooger of lager worden gesteld. Om echter den van den spiegel naar het te onderzoeken voorwerp gereflecteerden lichtkegel naar verkiezing te kunnen beperken, bevindt zich aan de benedenzijde van de voorwerptafel een zoogenaamd diaphragma (1), eene om hare as draaibare metaalplaat met ronde opening en van verschillende grootte.

In het algemeen is deze schijf zoo te stellen, dat het middelpunt eener opening precies in het verlengde van den tubusas valt.

(1) Op onze afbeelding bevindt zich op deze plaats een iets meer ingewikkeld toestelletje.

Deze stand wordt bij het draaien van het diaphragma iederen keer door het inspringen van eene veer kenbaar gemaakt.

Bij andere instrumenten vindt men in plaats van het beschreven diaphragma een zoogenaamd cylinder diaphragma; bij deze worden de met openingen van verschillende grootte voorziene metaalschijfjes („diaphragmen") in eenen cylindervormigen drager ingeschoven en kunnen zoo aan den eenen kant zoover naar boven worden geschoven, dat de oppervlakte van het diaphragma nagenoeg met de oppervlakte van de voorwerptafel gelijk komt, aan den anderen kant kunnen zij ook tot een zekeren graad worden nedergelaten, waardoor eene zekere beperking der naar het voorwerp gaande stralen mogelijk is. Verder kan echter de verlichting ook, zooals bij het eerstbeschreven diaphragma, door een diaphragma met nauwer of wijder opening te gebruiken geregeld worden.

Omtrent de bij ons toestel gevoegde twee *oculairen* en twee *objectieven* wil ik nog opmerken, dat die met de lage nummers de zwakste vergrooting geven. In het algemeen is bij de objectieven de vergrooting des te sterker, hoe kleiner de aan de benedenvlakte van het objectief zichtbare lens is. Hetzelfde geldt bij de oculairen voor de na het inschuiven in den microscooptubus naar boven gerichte lens, de zoogenaamde „*ooglens*".

De objectieven worden doelmatigerwijze niet direct aan den tubus aangeschroefd, maar er wordt, zooals in onze afbeelding zichtbaar is, tusschen beiden een zoogenaamde *revolver* (r) ingevoegd, die de wisseling der verschillende objectieven gemakkelijker maakt.

2. *Het maken van een microscopisch praeparaat.*

Daar het voor de meeste voorwerpen noodzakelijk is, ze onder het microscoop in doorvallend licht te onderzoeken, brengt men ze op een rechthoekig gesneden glasplaatje, het „*voorwerpglaasje*", dat natuurlijk eene zeer uiteenloopende grootte kan bezitten. Doelmatig is echter b. v. het zoogenoemde engelsche formaat met zijlengten van 76 en 26 mm.

Verder is het voor de meeste objecten niet mogelijk, ze droog en in lucht liggende te onderzoeken; in het bijzonder is het om levende nematoden te zien *volstrekt noodig, ze in water te brengen.* Men gaat dus voor dit doel op die wijze te werk, dat men een nematoden bevattend wortelgedeelte op een voorwerpglaasje in een druppel schoon water met twee naalden of zoo iets uitpluist. Wan-

neer men zich tot zwakke vergrootingen (b.v. obj. No. 3) beperkt, is een zoodanig praeparaat direct voor het mikroskopisch onderzoek te gebruiken en moet men slechts zorg dragen, dat de op het voorwerpglaasje aanwezige waterdruppel niet door verdamping indroogt.

Wil men daarentegen ook sterkere objectiven (b. v. obj. No. 7) gebruiken, dan is het noodzakelijk, den waterdruppel met een dunner glasplaatje, het *dekglaasje*, te bedekken. Daar deze objectieven sterk tot het te onderzoeken voorwerp moeten genaderd worden, zoude anders een nat en vuil maken van het objectief bijna onvermijdelijk zijn. Deze dekglaasjes worden in het algemeen in quadraatvorm geleverd en bezitten voor ons doel het best eene zijlengte van 16—20 mm. Kleinere dekglaasjes te gebruiken is daarom niet aanteraden, omdat het bij deze moeielijker te vermijden is, dat water over den rand van het dekglaasje vloeit en het objectief nat maakt. De dikte der dekglaasjes bedraagt voor ons doel het best 0.15—0.20 mm. Fijnere glaasjes te gebruiken, is voor ons niet noodig en zoude het schoonmaken der glaasjes slechts nog moeilijker maken. Dit gebeurt het best met oud en ongestijfd linnen.

Omdat nu echter het bedekken met een dekglaasje een platdrukken der nematoden kan veroorzaken, hebben verschillende onderzoekers aanbevolen, — inzonderheid wanneer men metingen wil verrichten — dunne glasdraadjes of zoo iets aan den raad van den waterdruppel te brengen, zoo dat het dekglaasje op deze kan rusten. In het algemeen zullen echter zeker de na het uitpluizen over blijvende wortelfragmenten eene voldoende onderlaag voor het dekglaasje opleveren.

3. *Het instellen van het microscoop.*

In ieder geval doet de aanvanger goed, zijn onderzoek met een zwak objectief (b. v. No. 3) en oculair te beginnen. Nadat deze aan den tubus resp. revolver zijn aangebracht, legt men het praeparaat op de voorwerptafel en stelt den spiegel zoo, dat men bij het zien in den tubus eene zoo helder mogelijke vlakte te zien krijgt. Dan beweegt men, terwijl men in den tubus ziet, dezen eerst met de grove instelling naar beneden, totdat een beeld van de in het praeparaat aanwezige voorwerpen zichtbaar wordt. Bij de nadere beschouwing van dit beeld gebruikt men dan in hoofdzaak slechts de mikrometerschroef.

Voordat wij echter hiertoe overgaan, willen wij ons een weinig over de werking der verschillende *verlichting* oriënteeren. Ten einde die spiegelstelling te vinden, waarbij eene zooveel mogelijk heldere en gelijkmatige verlichting van het praeparaat wordt geleverd, verwijdert men na benaderende instelling op het praeparaat en nadat men de grootste opening van het diaphragma in de tubusas heeft gebracht, oculair en praeparaat en kijkt van boven in den tubus; men ziet dan dicht boven de bovenste lensvlakte van het objectief een sterk verkleind beeld van de lichtbron eventueel met vensterkruis, boomen enz. Men slaagt er nu betrekkelijk snel in, den spiegel zoo te stellen, dat de geheele ter beschikking staande lichtbron op de voordeeligste wijze wordt gebruikt. Het best orienteert men den spiegel zoo, dat het geheele boven het objectief zichtbare beeld gelijkmatig helder verschijnt. In elk geval is echter het helderste gedeelte van de lichtbron in het midden van het genoemde beeld te brengen en te verhinderen, dat de eene kant van dit beeld aanzienlijk helderder is dan de andere.

Wanneer men bij zijne onderzoekingen niet aan eene bepaalde plek is gebonden, kan men op deze wijze ook gemakkelijk constateeren, welke plaats voor de opstelling van het microscoop het meest geschikt is. In het algemeen is het zeker het voordeeligst, wanneer het microscoop zoo dicht mogelijk bij een venster, dat een vrij uitzicht toelaat, kan worden geplaatst. Overigens is — zooals wij dadelijk nog zullen zien — voor het opzoeken der aaltjes geene zeer uitgebreide lichtbron noodig; men kan dit ook wel des avonds met behulp van eene dicht bij het microscoop te plaatsen, liefst lage petroleumlamp uitvoeren.

Verder kan men op de beschrevene wijze gemakkelijk bepalen, of op de voor het onderzoek gekozen plaats liever de holle of de platte spiegel gebruikt moet worden. Een algemeen geldig voorschrift is hiervoor namelijk niet te geven, ook is het verschil in de optische werking der beide spiegels gewoonlijk niet zeer groot. Voor ons doel is aanteraden eenvoudig dien spiegel te gebruiken, door welken men boven het objectief het gemakkelijkst een zoo gelijkmatig mogelijk verlicht beeld kan verkrijgen.

Heeft men nu op deze wijze de verlichting geregeld, dan brengt men het praeparaat weder op de voorwerptafel, schuift het oculair

in den tubus en beproeft met de grove en fijne instelling een zoo scherp mogelijk beeld te verkrijgen. Dit beeld zal nu wel gelijkmatig helder verlicht zijn, maar de begrenzing der kleinere wortelfragmenten, nematoden enz. misschien weinig scherp en duidelijk. Dit kan men nu daardoor verbeteren, dat men het diaphragma zoo draait, dat eene andere opening in de verlenging der tubusas valt.

In ieder geval zal men goed doen, zich dadelijk bij het begin der microscopische studie daarover te onderrichten, op welke wijze het microscopische beeld wordt veranderd, wanneer men een gedeelte van den door den spiegel naar het voorwerp heen gereflecteerden lichtkegel door het diaphragma afsnijdt. Indien men voor dit doel na elkaar de bij toepassing van de verschillende openingen van het diaphragma ontstaande beelden beschouwt, zal men spoedig opmerken, dat de teekening des te scherper, maar ook des te donkerder wordt, hoe kleiner de opening van het diaphragma is. Zijn echter in het praeparaat gekleurde voorwerpen aanwezig, dan zal men verder kunnen zien, dat de kleuren des te duidelijker zijn waartenemen, hoe grooter de bedoelde opening is. Omdat nu de in de koffiewortels aanwezige nematoden geheel of ten minste bijna geheel kleurloos zijn, zal men zeker bij het zoeken naar deze het best doen eene vrij kleine opening te gebruiken. Bij het nadere onderzoek door middel van het sterkere objectief zal men daarentegen reeds met het oog op de grootere helderheid eene iets grootere opening gebruiken. Overigens is het niet mogelijk in dit opzicht algemeen geldige voorschriften te geven. Een nader ingaan op dit onderwerp schijnt mij ook daarom niet zoo noodzakelijk, omdat met behulp van het bovenstaande een ieder wel gemakkelijk de noodige ondervinding kan verkrijgen.

Wij zullen dus tot ons praeparaat terugkeeren, dat wij nu, nadat wij voor de beste verlichting hebben zorg gedragen, op aaltjes willen onderzoeken. Hierbij is het eerst daarop te letten, dat wanneer de op het voorwerpglaasje gebrachte waterdruppel niet zeer dun is, geenszins alle in dezen aanwezige voorwerpen tegelijk scherp verschijnen, waarvan de oorzaak daarin is te zoeken, dat in het microscoop altijd slechts eene bepaalde doorsnede volkomen scherp wordt afgebeeld, terwijl de boven en beneden dit vlak aanwezige voorwerpen des te minder scherp verschijnen, hoe verder zij ervan verwijderd

zijn. Om ook van andere vlakken eene scherpe afbeelding te verkrijgen, moet men met de micrometerschroef de instelling veranderen. Ik moet ook dringend aanraden, bij het microscopizeeren den knop voor de beweging der micrometerschroef in het algemeen onafgebroken in de hand te houden en bij alle bewegingen van het praeparaat den tubus zoo intestellen, dat de beelden van die voorwerpen, die men wil onderzoeken, altijd in den voor het oog geschikten afstand komen te liggen. Anders zoude men zijn oog dwingen, ook beelden, die op een minder geschikten afstand liggen, nauwkeurig te beschouwen en zoude dus het accomodatievermogen van het oog moeten inspannen, wat zeer vermoeiend is en op den duur ook schadelijk kan wezen.

Terloops wil ik hier nog opmerken, dat heeren, die gewend zijn, eenen bril te dragen, naar verkiezing met of zonder deze kunnen microscopizeeren, omdat door middel van de micrometerschroef het microscopisch beeld in elken gewenschten afstand kan worden gebracht.

Indien men dus onder voortdurende beweging van de micrometerschroef het praeparaat doorzoekt, moet men in de eerste plaats naar zoodanige voorwerpen zoeken, die eene palingvormige gestalte bezitten en zich vrij in het water bewegen. Heeft men de aaltjes eenen keer grondig beschouwd, dan kan men ze ook bij zwakke vergrooting meest zonder moeite weer herkennen. Met behulp van de bij deze mededeeling gevoegde teekeningen zal men ook verschillende voor den Tylenchus coffeae karakteristieke kenteekens reeds met de zwakke vergrooting kunnen waarnemen.

Zijn echter in het praeparaat geene zich bewegende aaltjes aanwezig, dan zal men dikwijls door het praepareeren gekwetste aaltjes of fragmenten ervan kunnen vinden, die men bij eenige oefening, vooral wanneer het karakteristieke kopeind te zien is, reeds bij zwakke vergrooting als tot een Tylenchus behoorend kan herkennen. Zeker is echter in dat geval voor den minder geoefenden het gevaar eener verwisseling met elementen der koffiewortels voorhanden en is hierbij, bij gebrek aan de noodige ondervinding, eene zekere voorzichtigheid noodzakelijk. In ieder geval schijnt het mij ook raadzaam, eenigzins twijfelachtige voorwerpen bij sterkere vergrooting te beschouwen.

Eene *sterkere vergrooting* kan men nu in de eerste plaats daardoor verkrijgen, dat men den in zijne omhulling te verschuiven tubus volkomen uittrekt. Zooals men dadelijk ziet, is echter de op deze wijze te bereiken verhooging der vergrooting niet zeer aanzienlijk. Terloops wil ik echter op deze plaats aangaande de tubuslengte opmerken, dat de sterkere objectieven bij eene bepaalde tubuslengte de scherpste en van gekleurde randen meest vrije beelden geven. De objectieven van Leitz zijn nu zoo geconstrueerd, dat bij een tubuslengte van 170 mm. de scherpste beelden ontstaan. Overigens is ook het sterkste van de beide aan ons microscoop toegevoegde objectieven in dit opzicht nog betrekkelijk weinig gevoelig. Intusschen zal men goed doen, bij aanwending van dit objectief de tubuslengte zoo te regelen, dat de reeds hierboven p. 3 genoemde schaal zonder gebruik van een revolver 170 of met dezen, die 10 mm. hoog is, 160 aanwijst.

Ten tweede kan eene sterkere vergrooting door gebruik van een sterker oculair, dus in ons geval van oc. No. III, worden bereikt. In het algemeen geven echter de sterkere oculaires donkerder beelden en het hangt slechts van de hoedanigheid van het aangewende objectief af, of het sterkere oculair meer détails doet waarnemen. Bij het zwakkere oculair zal dit echter wel het geval zijn en zal het ook wel in het algemeen zijn aanteraden, voor het zoeken naar aaltjes de combinatie van oculair III met objectief 3 te gebruiken.

Eene aanzienlijk sterker vergrooting, die voor de detailstudie geschikt is, kan men nu echter eerst door aanwending van een sterker objectief bereiken. Voordat wij dit in toepassing brengen, moeten wij, wanneer wij dit niet reeds vroeger gedaan hebben, den de aaltjes bevattenden waterdroppel met een dekglaasje bedekken, waarbij speciaal erop te letten is, dat geen water over den rand van het dekglaasje heenvloeit. Verder is het, om de noodige toenadering van het objectief mogelijk te maken, in dit geval noodig, eventueel aanwezige grootere wortelgedeelten voor het opleggen van het dekglaasje te verwijderen.

Wanneer nu het praeparaat op deze wijs voor de toepassing der sterkere vergrooting is voorbereid, schroeven wij het objectief No. 7 aan den nog vrijen arm van den revolver en draaien dezen dan zoo, dat nu objectief 7 in plaats van het vroeger gebruikte in de verlenging der tubusas komt. Zijn revolver en objectieven precies

geadjusteerd, dan verschijnt het midden van het vroeger geziene beeld weder in het gezichtsveld van het microscoop en is ook slechts nog een geringe hulp met de micrometerschroef noodzakelijk, om een volkomen scherp beeld te verkrijgen. Bij dit beeld zal men wel met behulp der in deze mededeeling gegevene beschrijvingen en teekeningen gemakkelijk kunnen vaststellen, of Tylenchus coffeae aanwezig is of niet. Evenzoo hoop ik, dat ook de andere tot nog toe door mij in eenigszins grootere hoeveelheden waargenomen nematoden met behulp van het in hoofdstuk V medegedeelde zonder moeite zullen te herkennen zijn.

Ik wil hier echter nog eens erop wijzen, dat het bij gebruik der sterkere vergrooting nog meer noodig is, de micrometerschroef voortdurend op en neer te bewegen om zoo beurtelings alle gedeelten van de te onderzoeken voorwerpen volkomen scherp afgebeeld te verkrijgen.

4. *Het schoonhouden van het microscoop.*

Van de verschillende gedeelten van het microscoop is bovenal het objectief voor iedere verontreiniging te beschermen. De eerstbeginnende zal ook goed doen, de naar het voorwerp toegekeerde vlakte van het objectief steeds na het gebruik te bekijken en wanneer eene bevochtiging door de vloeistof van het praeparaat heeft plaats gehad, deze door afwisschen met een schoon lapje b. v. van oud ongestijfd linnen te verwijderen. Heeft men echter met zure of etsende reagentien gewerkt, dan is natuurlijk de grootste voorzichtigheid geboden. Is nochtans het objectief door zulk eene vloeistof bevochtigd, dan moet men dit dadelijk met schoon water afwasschen en dan het objectief met een lapje afdrogen.

Is op de bij het microscopiseeren naar boven gekeerde lensvlakte van het objectief stof verzameld, dan is dit met een lapje of penseel te verwijderen. Tegen een uiteenschroeven van het objectief moet ik daarentegen met allen nadruk waarschuwen

Wanneer het geheele microscoop niet op eene stofvrije plaats kan worden geplaatst, zal men zeker het best doen dit na het gebruik in het bijgegeven kistje weder op te bergen of met een glazen klok te bedekken.

II. DE VOOR HET NADERE ONDERZOEK DER NEMATODEN TOETEPASSEN METHODEN.

Wil men de nematoden langeren tijd achtereen voor microscopische beschouwing toegangelijk hebben, dan is het bedekken met een dekglaasje niet aan te wenden, daar dit de voor de ademhaling der nematoden noodzakelijke lucht zoude afsluiten. Men zal dus in dit geval doelmatiger in plaats van het gewone voorwerpglaasje eene zoogenoemde „*vochtige kamer*" gebruiken, waarbij het dekglaasje slechts met den rand op eene hiervoor geschikte onderlaag — b.v. zooals in Fig. 2

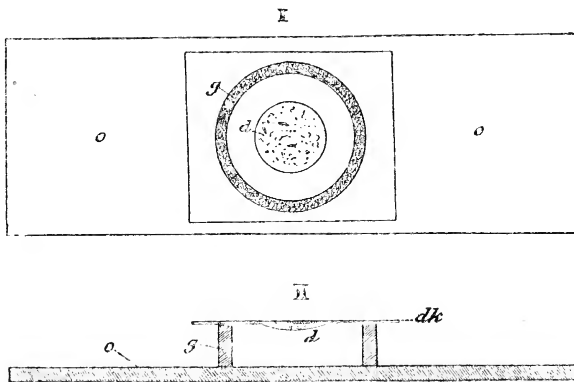


Fig. 2. Vochtige kamer. I. Van boven gezien. II. In optischen doorsnede; o voorwerpglaasje, g glasring, dk dekglaasje, d waterdruppel.

eenen op den objectdrager (o) met Canadabalsem vastgekleefden glazenring (g)—rust, terwijl de de nematoden bevattende waterdroppel (d) van de benedenzijde van het dekglaasje (dk) naar beneden hangt. Hierbij is nog aantebevelen den naar boven gekeerden rand van den glazenring vóór het opleggen van het dekglaasje met vaseline te bestrijken. Op deze wijze wordt een afglijden van het dekglaasje en

een indrogen van den cultuurdruppel belemmerd. Blijkbaar wordt verder bij deze zoogenoemde „*cultuur in den hangenden druppel*” eene latere infectie door andere organismen tegengegaan en het praeparaat kan ook met de sterkste vergrootingen onderzocht worden, wanneer men slechts zorg draagt, dat de cultuurdruppel voldoende uitgespreid is; anders zouden bij toepassing van sterkere objectieven, die eene betrekkelijk groote toenadering tot het te onderzoeken object noodzakelijk maken, de in de onderste gedeelten van den waterdruppel aanwezige organismen voor het onderzoek ontoegangelijk zijn. Door toepassing van deze methode was het mij mogelijk een en hetzelfde object dagen lang onder het microscoop in het leven te houden, wat natuurlijk voor de vaststelling van de ontwikkelingsgeschiedenis der nematoden van groote waarde kan zijn.

Voor de overbrenging der nematoden in eene vochtige kamer of over 't algemeen voor haar transport, kan men doelmatig in eene c. 0.5 mm. wijde punt uitgetrokken glasbuisjes gebruiken. Men brengt dan den waterdroppel, die het over te brengen dier bevat, onder toepassing van eene zeer zwakke vergrooting, die echter nog een onderscheiden der verschillende in aanmerking komende organismen mogelijk maakt, onder het microscoop en voert dan het buisje, terwijl men in het microscoop kijkt, zoodanig in de vloeistof, dat de bedoelde nematode onmiddellijk voor den mond van het glazen buisje ligt en daarop met het door capillaire kracht in het buisje dringende water wordt medegevoerd. Na eenige oefening slaagt men bij deze manipulatie bijna altijd. Bij het uitblazen van de in het buisje opgezogen vloeistof op het dekglasje der vochtige kamer wordt dan gewoonlijk ook het over te brengen aaltje mede op het glaasje gebracht. Blijft het dier echter bij uitzondering aan den wand van het buisje vastzitten, zoo kan men het dikwijls door herhaald inzuigen en uitblazen van vloeistof uit het glazen buisje drijven.

Zijn nu echter in den oorspronkelijken waterdruppel zeer talrijke organismen aanwezig, die dicht bij elkaar liggen, zoo kan men op deze wijze natuurlijk niet één enkel dier isoleeren. Nog minder is het mogelijk, bacteriën en soortgelijke kleine organismen te ecarteeren. Tot op zekere hoogte kan men echter eene isoleering daardoor

verkrijgen, dat men bij de eerst opgevangen vloeistof op eenen objectdrager wat schoon water of gesteriliseerde cultuurvloeistof voegt, de aanwezige organismen daarin zoo veel mogelijk gelijkmatig verdeelt en dan op nieuw op het bedoelde organisme op de boven beschrevene wijze jacht maakt. Eventueel kan men deze werkwijze ook verschillende malen herhalen. Om verontreiniging door bacteriën tegen te gaan, heb ik ook wel in de cultuurvloeistof 1 °/₀₀ citroenzuur gevoegd, dat, zooals ik gevonden heb, voor de nematoden niet schadelijk is.

Verder heb ik in den laatsten tijd ook wel de voor de praeparatie gebruikte glazen buizen, naalden etc. op de bekende wijze gesteriliseerd.

Omdat ik er nu met het oog op de praktijk minder prijs op stelde, de anatomie der nematoden tot in de allerfijnste details te onderzoeken, maar deze in de eerste plaats slechts in zoo ver wenschte na te gaan, als voor het onderscheiden der verschillende soorten en voor het volkomen begrijpen der ontwikkelingsgeschiedenis noodig is, heb ik mijne onderzoekingen hoofdzakelijk aan levende dieren uitgevoerd. De teekeningen, die bij deze mededeeling behooren, zijn dan ook bijna uitsluitend naar levende dieren vervaardigd. Eenige belangrijke eigenschappen der nematoden zijn echter aan de levende dieren veel minder goed te zien, dan aan zoodanige, die onder toepassing van daarvoor geschikte methoden gedood zijn.

In de eerste plaats noem ik als een voor dit doel reeds door verschillende onderzoekers toegepast middel, het dooden der nematoden door *verwarmen*. Dit kan doelmatig boven eene kleine spirituslamp of eenvoudiger boven de vlam van een lucifer gebeuren. Een voordeel van deze methode is, dat zich de nematoden bij het verwarmen meest volkomen recht uitstrekken, waardoor het voor de onderscheiding der verschillende soorten noodzakelijk meten der verschillende lichaamsdeelen gemakkelijker gemaakt wordt. De structuurverandering van de op deze wijze gedoode nematoden is des te geringer, naarmate de aaltjes minder boven de voor het dooden noodzakelijke grens verwarmd waren. Het best is dus eene zoodanige temperatuur toetepassen, die juist de bewegingen der aaltjes tot stilstand brengt. De hiervoor noodige praktische ondervinding

kan men gemakkelijk verkrijgen, wanneer men bij eenige voorproeven onder toepassing van zwakke vergrooting het resultaat van iedere verwarming controleert.

Eene betere en zekerder fixeering der fijne structuur der aaltjes verkrijgt men door toevoegen van verdund (b.v. 1°/₀) osmiumzuur tot den waterdruppel, die de aaltjes bevat. Dit reagens heeft echter het nadeel, dat de aaltjes daarin bij langere inwerking donker bruin tot zwart worden. Bovendien is het door zijne giftige werking op oogen en slijmvliezen niet zeer aan te bevelen. Verder heb ik ook met oplossingen van Jodium en sublimaat en met pikrinzwavelzuur eenige proeven genomen, die vrij gunstige resultaten hebben geleverd.

Eene goede doorzichtigmaking der nematoden, die vooral de uit chitine bestaande gedeelten duidelijker maakt, verkreeg ik door chloraalhydraat, dat men in geconcentreerde of weinig verdunde waterige oplossing kan toepassen. Gelijksoortige, maar in het algemeen minder gunstige resultaten verkreeg ik met oplossingen van kalihydraat of natriumsalicylaat.

Eindelijk wil ik nog eene methode beschrijven, door welke de nematoden in de aangetaste plantendeelen, speciaal in de koffiewortels, duidelijk kunnen worden gemaakt, waardoor alleen de nematoden, maar niet de cellen der koffiewortels intensief worden gekleurd. Bij deze methode gebruikt men als fixeeringsmiddel alkohol, die ± 2 °/₀ van de gewone geconcentreerde zoutzuuroplossing bevat Men brengt in die vloeistof òf dunne sneden van de te onderzoeken plantendeelen òf grootere stukken, die dan later met het mikrotoom in dunne sneden worden gesneden.

In ieder geval wordt de zure alkohol, na 24 uren of naar verkiezing langer ingewerkt te hebben, uitgewaschen en worden de coupes dan dadelijk gekleurd, terwijl het mikrotoom-materiaal eerst op de gewone wijze met parafine gedrenkt wordt en later de met eiwit of water op den objectdrager vastgekleefde sneden gekleurd worden. Als kleurstof wordt eene oplossing van hematoxyline in ammoniakaluin gebruikt; goede resultaten werden verkregen met een mengsel van 100 ccm. eener 10°/₀ waterige aluinoplossing met 6 ccm. van eene geconcentreerde alkoholische hematoxylinoplossing. In het

algemeen geven echter meer verdunde oplossingen nog iets betere resultaten; zeer geschikt is b. v. eene oplossing, die door vermengen van de boven beschreven kleurstof met de tienvoudige hoeveelheid water wordt verkregen. Overigens is het niet noodig de genoemde verhouding precies te volgen. Daarentegen is het van belang, dat de oplossing niet te oud zij, omdat anders ook de cellen van den koffiewortel intensief gekleurd worden. De beste resultaten verkreeg ik met eene verdunde oplossing, die 1—3 dagen oud was. Deze kan men best 24 uren laten inwerken, terwijl de bovengenoemde, geconcentreerde oplossing reeds in een uur goede kleuringen levert. Na de kleuring wordt de kleurstof met water uitgewasschen en het praeparaat dan op de gewone wijze in glycerine, glycerine- gelatine of canadabalsam ingesloten. In het laatste medium zijn de kleuren natuurlijk het best te zien. Om teleurstellingen te voorkomen, wil ik ten slotte nog opmerken, dat andere hematoxyline-oplossingen en wel in het bijzonder de anders zoo voortreffelijke Delafieldsche en het Haemaluin van J. Maier voor dit doel *niet* zijn te gebruiken, omdat door deze ook de koffiecellen, gedeeltelijk zelfs intensiever dan de nematoden worden gekleurd. Ook bij fixeering met zuivere alkohol verkreeg ik veel minder goede resultaten, dan met de zoutzuur houdende alcohol.

III. TYLENCHUS COFFEAE sp. n.

In een voorloopig rapport (1) werd reeds medegedeeld, dat ik in zieke koffiewortels eene soort van Tylenchus zeer dikwijls heb aangetroffen. Ik heb sedert deze soort, die met groote waarschijnlijkheid als de oorzaak van het ziekworden of sterven der bedoelde wortels moet worden beschouwd, nader onderzocht en geef in het eerste gedeelte van dit hoofdstuk eene iets uitvoeriger beschrijving van de geheele ontwikkelingsgeschiedenis van dit aaltje. In het tweede gedeelte wil ik dan de met onzen Tylenchus verwante soorten van dit geslacht kort bespreken en wil hieromtrent slechts voorloopig opmerken, dat het zeer waarschijnlijk is gebleken, dat onze Tylenchus te voren nog niet is beschreven. Ik heb voor hem den naam *Tylenchus Coffeae* gekozen.

A. Ontwikkelingsgeschiedenis.

Voordat wij de verschillende ontwikkelingsstadiën van den Tylenchus coffeae bespreken, willen wij eene korte beschrijving der algemeene anatomie van het koffieaaltje laten voorafgaan en houden ons hierbij in het algemeen aan de volwassen larve, omdat wij bij deze alle belangrijke organen met uitzondering van de sexuele aantreffen en dus op deze wijze voor de andere ontwikkelingsstadien van het koffieaaltje eene goede oriënteering kunnen verkrijgen. In aansluiting hieraan zullen wij dan met het ei beginnende de verschillende ontwikkelingsstadiën van Tylenchus coffeae bespreken.

1. *Algemeen overzicht van de anatomie van Tylenchus Coffeae.*

Wat ten eerste de *uiterlijke vorm* aangaat, deze is als bij alle nematoden sterk in de lengte gestrekt, zoo dat deze dieren hun naam „aaltjes" wel verdienen.

(1) Cf. Teysmannia 1897. p. 401.

Bij de levende dieren is echter het lichaam slechts zeer zelden recht, veeleer vertoonen zij bij hunne voortbeweging in het water meest zeer energieke krommingen, zoodat de gestalte der dieren zich voortdurend verandert. In tegenstelling met verschillende andere Tylenchus-soorten wordt verder het lichaam van *Tylenchus Coffeae*, zooals ook aan Fig. 3 is te zien, naar beide einden toe slechts zeer weinig dunner en is vooral het achtereinde betrekkelijk stomp.

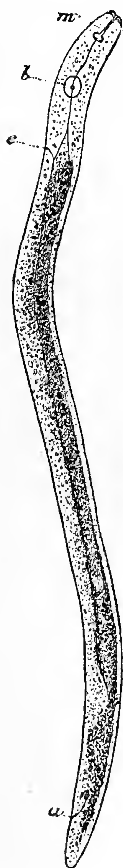


Fig. 3. Volwassen larve van Tylenchus Coffeae 350 maal vergroot. *m*, mondstekel, *b*, bulbus, *a*, anaalopening, *e*, porus excretorius.

De uitwendige huid van *Tylenchus Coffeae* is volkomen glad, vertoont echter bij gebruik van sterke vergrooting zeer fijne *dwarsche strepen*. De afstand dezer strepen bedraagt volgens de met den oculairmicrometer uitgevoerde metingen weinig meer dan $\frac{1}{1000}$ mM. Buitendien ziet men met sterke objectieven en onder nauwkeurige instelling op de oppervlakte der dieren op iedere zijde van deze twee fijne langsstrepen, die de zoogenoemde *zijvelden* begrenzen. Deze strepen zijn echter bij *Tylenchus Coffeae* betrekkelijk weinig duidelijk. Haar afstand bedraagt ongeveer een kwart van de dwarsche doorsnede van het aaltje.

Het *kopeinde* is dadelijk door zijne sterke lichtbreking, die zeker op chitine berust en ook in chloraalhydraat oplossing bewaard blijft, te herkennen. Bij scherpe instelling op de asdoorsnede ervan verkrijgt men het in Fig. 3 en 5, VIII geteekende beeld. Van boven gezien vertoont de kop van onzen Tylenchus hetzelfde beeld als Heterodera Schachtii volgens de opgaven van

Strubell (1), namelijk een zestralig sterretje (cf. Fig. 5, vi). Dit beeld kan men bij levendige bewegingen uitvoerende exemplaren — alhoewel meest slechts voor korte oogenblikken — dikwijls te zien krijgen.

Aan het kopeinde vindt men nu verder den reeds bij betrekkelijk zwakke vergrootingen zichtbaren *mondstekel*, ook wel *stilet* genoemd. Deze bezit eene speldvormige gestalte, met het spitse einde naar voren gericht. Het met drie samengegroeide bolvormige verdikkingen voorziene achtereinde staat daarentegen met het maagkanaal of *oesophagus* in communicatie. De mondstekel is ook geenszins een vast lichaam, zooals het volgens het direct waartenemen verschijnsel kan schijnen, maar vormt veeleer eene buis, waardoor de altijd vloeibare voedingsstoffen in het lichaam van het aaltje komen. De mondstekel is daardoor ook bijzonder geschikt om het celsap uit de plantencellen optezuigen, omdat hij parallel met de lengterichting van het aaltje kan worden verschoven. Deze beweging kon ik herhaaldelijk waarnemen, vooral aan dieren, die op het punt stonden zich te vervellen.

Gewoonlijk bevindt zich echter de mondstekel bij de in den vloeibaren cultuurdruppel aanwezige aaltjes volkomen in rust en slechts bij uitzondering en zoover ik kon waarnemen slechts bij doode dieren, kan men hem aan het kopeinde naar buiten zien steken. Of de mondstekel buitendien ook bij het indringen in de cellen der koffiewortels en bij de beweging der dieren in het plantenlichaam eene rol speelt en of hiervoor, zooals Strubell (2) voor Heterodera Schachtii aangeeft, de chitineuse kopkap van belang is, heb ik niet met zekerheid kunnen uitmaken.

Aan het verdikte achtereinde van den mondstekel begint nu verder, zooals reeds medegedeeld werd, het *maagkanaal* of *oesophagus*. Dit is een zeer fijn kanaal, dat op eenigen afstand van den mondstekel door aanzwelling een ongeveer bolvormigen „*bulbus*" (6 Fig. 3) vormt. Het verdere verloop van den oesophagus is bij onzen Tylenchus aan het levende materiaal meest niet met zekerheid te

---

(1) Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung des Rübennematoden Heterodera Schachtii Schmidt. Bibliotheca zoologica. 1888 Heft. 3 p. 15.

(2) l. c. p. 16.

volgen, wat overigens volgens DE MAN (1) ook bij verschillende andere soorten van dit geslacht het geval is. Soms kon ik echter *reeds* bij levende dieren waarnemen, dat de oesophagus onmiddellijk na zijn uittreden uit den bulbus nauw blijft; later wordt hij echter wel wijder zooals bij de andere Tylenchus-soorten.

De grens tusschen oesophagus en *darm* kon ik aan het levende materiaal niet waarnemen, omdat de vele sterk lichtbrekende inhoudsstoffen, die het geheele achtereinde van het koffieaaltje bijna ondoorzichtig maken en inzonderheid den darm omhullen, de waarneming bemoeilijken.

De langgestrekte darm reikt bijna tot aan het achtereinde van het lichaam en het uiterste gedeelte ervan is reeds aan het levende dier, verondersteld dat het dier zich in de juiste ligging bevindt, zonder moeite waartenemen (*a*, fig. 3).

Van andere organen wil ik nog van het zoogenoemde *excretie-* of *zijvat* melding maken. Men kan het betrekkelijk gemakkelijk achter den bulbus aan de oppervlakte van het lichaam zien verloopen (*e*, fig. 3) altijd aan dezelfde zijde als de anus: op de buikzijde. Men kan namelijk bij de nematoden, ofschoon zij gewoonlijk vrij cylindrisch zijn, eene buik- en rugzijde en twee zijvlakken onderscheiden. Op de buikzijde komt nu behalve den darm en het excretievat ook het later nog te bespreken vrouwelijke geslachtsorgaan uit. Bij uitgestrekte vrouwelijke dieren zal men dus òf alle 3 genoemde organen duidelijk kunnen zien òf geen ervan. In het laatste geval kan men bij onder dekglas zich bevindende dieren meest zonder veel moeite de organen daardoor zichtbaar maken, dat men door eenen lichten stoot op het dekglaasje, b.v. met eene speld, het aaltje langzaam laat rollen en zoo langzamerhand alle zijden in het gezichtsveld van het microscoop brengt.

2. *Ontwikkeling van het ei.*

Bij het uitpluizen van een Tylenchus bevattend worteltje verkijgt men zeer dikwijls eieren in de verschillendste ontwikkelingsstadiën. Deze bezitten, zooals uit de bijgaande figuur 4 te zien is, eene ovale

(1) Die frei in der reinen Erde und im Süsswasser lebenden Nematoden der niederländischen Fauna. 1884, p. 141.

vorm en zijn volgens de met de oculairmicrometer uitgevoerde metingen 0.052—0.056 mm. lang en 0.023--0.26 mm. breed.

In het eerste ontwikkelingsstadium (fig. 4, I) bestaat een zoodanig eitje uit eene enkele cel, die door talrijke olieachtige druppeltjes donker grauw zich voordoet. Later deelt zich de eicel herhaaldelijk; vooral 2 tot 8 cellige eieren zijn zeer dikwijls te vinden (fig. 4, II—V). De laag der verschillende cellen is hierbij evenmin constant als bij Heterodera Schachtii volgens de opgaven van STRUBELL (1). Verder verschilt ook de grootte der cellen reeds in driecellige eieren (fig. 4, III) zeer duidelijk.

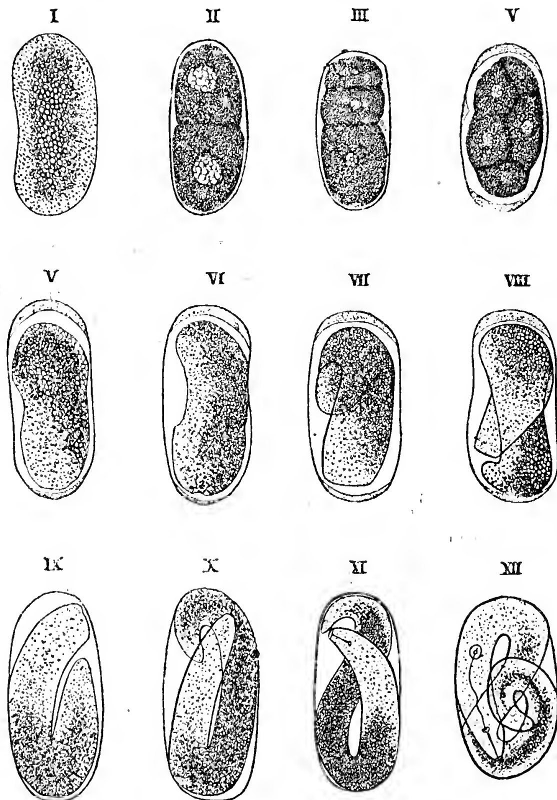


Fig. 4. Eieren van *Tylenchus Coffeae* in verschillende ontwikkelingstadiën. 430 maal vergroot.

(1) l. c. p. 34.

Ik wil er echter hier nog op wijzen, dat de eieren van het koffieaaltje geenszins altijd vóór de eerste celdeeling uit het moederdier worden uitgestooten. Ten minste ik vond eenige malen vrouwelijke Tylenchus-individuen, die een 2-of 4 cellig ei inhielden. In één geval kon ik zelfs waarnemen, dat een in het moederdier besloten tweecellig eitje in de vochtige kamer door herhaalde deeling in het 6-cellig stadium overging; een uitstooten van het eitje had echter in dit geval ook binnen 20 dagen niet plaats. Het moederdier vertoonde gedurende dezen tijd bij de dagelijksch uitgevoerde contrôle duidelijke vormveranderingen, ofschoon zijne fijnere structuur een ziekelijken indruk maakte. Het is wel waarschijnlijk, dat bij deze anomale verhouding de verandering in de uiterlijke levensvoorwaarden eene rol heeft gespeeld.

Na de verdere celdeelingen worden de grenzen tusschen de enkele cellen steeds onduidelijker en zijn aan het hier alleen in aanmerking komende levende materiaal weldra niet meer te herkennen. Daarentegen heeft eene zekere afzondering in doorzichtige en door ingesloten olieachtige druppels donker schijnende gedeelten plaats (fig. 4, V). Allengs trekt zich verder het zich ontwikkelende aaltje meer en meer van de eihuid terug en vertoont een duidelijk verschil tusschen de beide uiteinden (fig. 4, VI en VII), waarvan, zooals de verdere stadiën (fig. 4. VIII—XI) doen herkennen, het heldere het vooreinde van het aaltje wordt. Dit strekt zich dan snel in de lengte en de inwendige organen worden daarin zichtbaar. Het eerst is de karakteristieke mondstekel duidelijk te zien (fig 4, XI) later verschijnt ook de oesophagus met den bulbus (fig. 4, XII). Eieren in dit ontwikkelingsstadium zijn natuurlijk van die der meeste anderen nematoden-geslachten, die eenen anders gebouwden of in 't geheel geenen mondstekel bezitten, met zekerheid te onderscheiden.

De snelheid, waarmede eenige van deze metamorphosen worden doorloopen, is uit Fig. 4 te zien. Daarin is gedeeltelijk *hetzelfde* eitje in verschillende, in de vochtige kamer waargenomene ontwikkelingsstadia afgebeeld. Zoo heeft zich uit het tweecellige stadium (fig. II) het in fig. IV. afgebeelde in 3 dagen ontwikkeld. Verder stellen fig. V—VII hetzelfde eitje voor en ligt tusschen Fig. V en VI eene tijdruimte van 26, en tusschen VI en VII eene van 3½

uren. Evenzoo liggen tusschen fig. IX en X 23 en tusschen X en XI 24 uren. Bij het in Fig. XI afgebeelde eitje was de mondstekel nog slechts zeer zwak lichtbrekend, 24 uren later vertoonde het echter reeds de gewone lichtbreking en buitendien was dan ook de bulbus duidelijk te zien.

Natuurlijk is uit deze waarnemingen nog niet met zekerheid optemaken, hoe lang de geheele ontwikkelingsgang van het eitje duurt. Hiervoor zou het noodzakelijk zijn, de geheele ontwikkelingsgeschiedenis van één zelfde eitje te volgen. Verder is het ook zeer wel mogelijk, dat deze metamorphosen in den koffiewortel in andere tijdruimten afloopen, dan na het overbrengen in de vochtige kamer. Waarschijnlijk schijnt het mij echter volgens de bovenstaande opgaven, dat voor de geheele ontwikkeling van het eitje eenige dagen, vermoedelijk niet minder dan 6 of 7, noodig zijn.

Eindelijk wil ik er nog de aandacht op vestigen, dat de eenigszins in de lengte gestrekte embryo's, zoolang ze nog levend zijn, zich binnen de eihuid voortdurend heen en weer bewegen. Bij de oudere embryo's is deze beweging dikwijls zoo snel, dat daardoor het nauwkeurig teekenen der eitjes zeer moeielijk wordt.

3. *Het larvestadium.*

„Larven" noemt men de nematoden van af het kruipen uit het eitje tot aan de vorming der geslachtsorganen.

De larven bezitten altijd eene palingvormige gestalte en voeren in den waterdruppel vrij levendige bewegingen uit De kleinste larven (fig. 5, I), die ik kon vinden, bezaten eene lengte van 0.22 mm. en eenen dwarschen diameter van 5.3 procent der lichaamslengte (1). Reeds met betrekkelijk zwakke vergrooting herkent men bij deze dieren den aan het achtereinde verdikten mondstekel. Ook

(1) De dikte der nematoden, de lengte van den staart en andere dimensies worden gewoonlijk niet in absolute maten aangegeven, maar door haar verhouding tot de lichaamslengte van het bedoelde diertje. Van de verschillende in dit opzicht toegepaste methoden schijnt mij die door Cobb (The Agricultural Gazette of New South Wales, 1892 Vol. I. p. 131) ingevoerd, volgens welke de verschillende afmetingen in procenten der lichaamslengte uitgedrukt worden, de doelmatigste te zijn. Deze methode wil ik dus ook in het vervolg toepassen en daarbij de afkorting „%l" gebruiken. Wordt dus b. v. gezegd, dat de staartlengte van eene nematode 5 %l bedraagt, zoo is daarmede 5 procent van de geheele lichaamslengte van hetzelfde aaltje bedoeld.

de oesophagus met den bulbus is te zien. De twee achterste derden van het lichaam zijn door talrijke sterk lichtbrekende, zeker olieachtige druppeltjes meer of minder donker. De grootere van deze druppeltjes vertoonen bij jonge dieren zeer dikwijls eene regelmatige verdeeling in twee rijen (fig. 5, I). Van eene anaalopening of een excretievaatje, die bij oudere larven ook aan levend materiaal zonder moeite zijn te zien, kon ik bij de jongste larven ook na voorafgaand dooden door zwak verwarmen of na toevoeging van chloraalhydraat niets waarnemen.

Nadat de larven eene zekere grootte hebben bereikt, heeft haar eerste *vervelling* plaats. Het begin van deze is daaraan te herkennen, dat het achtereinde van den mondstekel verdwijnt (fig. 5, II). Het blijkbaar de mondopening volkomen verstoppende vooreinde van den

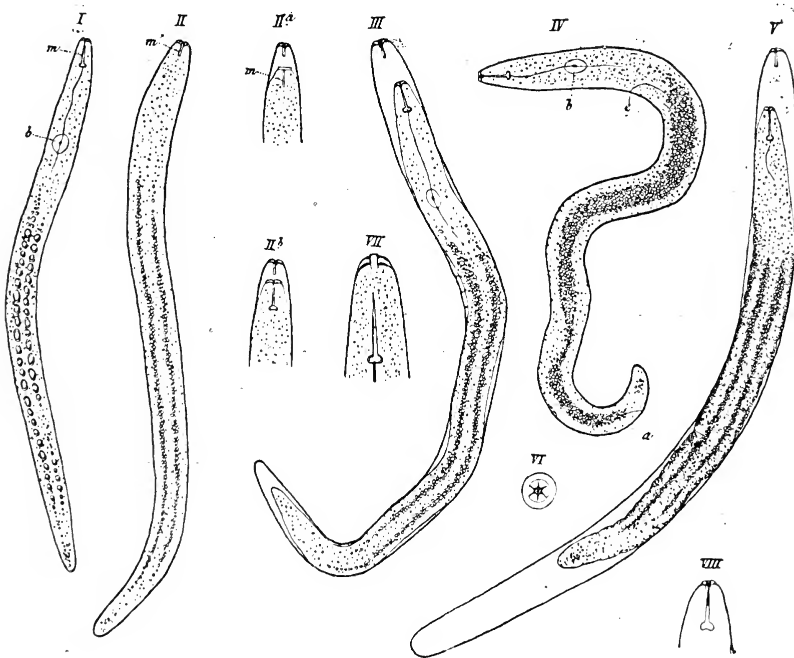


Fig. 5 Tylenchus Coffeae, larvestadiën. I. Jonge larve. II Larve vóór de vervelling; IIa. Kop van dezelfde larf 4 uren later, IIb. Id. 19 uren later. III. Larf nog in de oude huid IV. Larve na het verlaten der oude huid. V. Anormaal (?) vervellingsstadium. VI. Kop van boven gezien. VII Kop van een afgestorven larf (cf. p. 24) VIII. Kop na behandeling met chloraalhydraat. I, IV ed V. 325, II en III 280, VI en VII 550. VII 700 maal vergroot.

mondstekel had bij eene zoodanige larve eene lengte van 7 μ, terwijl de lengte van den normalen mondstekel 15 μ. bedraagt.

Het is wel waarschijnlijk, dat het achtereinde van den mondstekel in het lichaam van het aaltje wordt opgelost en het schijnt mij met het oog hierop van belang, dat het achtereinde van den mondstekel zoowel in chloraalhydraat als ook in een mengsel van glycerine en azijnzuur veel sneller zijne sterke lichtbreking verliest dan het vooreinde. Men zoude ook kunnen denken, dat het achterblijvende gedeelte van den mondstekel in werkelijkheid een met de kopkap in samenhang staand, den mondstekel omgevend omhulsel was, dat bij de vervelling niet mede wordt opgelost. Dit wordt echter reeds daardoor onwaarschijnlijk, dat ik ook bij toepassing der sterkste vergrootingen van een zoodanig omhulsel niets kon waarnemen, ook niet bij dieren, bij welke de mondstekel zich in de richting der lichaamsas bewoog, waarbij blijkbaar het omhulsel moest in rust blijven. Verder heb ik ook bij eenige beschadigde dieren, bij welke de geheele mondstekel, zooals in fig. 5, VII is afgebeeld, uit de mondopening in het binnenste van het lichaam was binnengetrokken, eveneens van een aan de mondopening vast zittend sterk lichtbrekend omhulsel niets kunnen zien. Eindelijk kon ik ook bij deze dieren waarnemen, dat na de behandeling met chloraalhydraat het vooreinde van den mondstekel nog sterk lichtbrekend was, op het oogenblik dat het achtereinde niet meer duidelijk was te zien.

De oesophagus en vooral de bulbus schijnt in dit stadium ook opgelost te worden, ten minste aan verschillende in dit stadium zich bevindende larven was er niets van te zien.

Bij de cultuur van zoodanige larven in de vochtige kamer kan men nu verder waarnemen, dat zich het kopeinde van de oude huid terugtrekt en in deze heen en weer beweegt.

Bij het in fig. 5, II*a* afgebeelde stadium, dat zich in 4 uren uit dat van fig. 5, II heeft ontwikkeld, was het vooreinde van den nieuwen mondstekel reeds te herkennen. Maar eerst 15 uur later (fig. 5, II*b*) is de mondstekel volkomen aangelegd; de normaal sterke lichtbreking vertoonde hij eerst nog een dag later.

Nadat op deze wijze een nieuwe kop gevormd is, trekt zich het geheele dier van de oude membraan terug (fig. 5, III) en beweegt zich in deze, daarbij dikwijls eene duidelijke dwarsrimpeling vertoonende (vergl. fig. 5, V). Eindelijk bevrijdt zich echter het dier geheel van de oude huid. In fig. 5, IV is een aaltje afgebeeld, bij

welk ik direct onder het microscoop het sluipen uit de oude huid kon zien. Dit aaltje maakte zeer levendige bewegingen, zoodat het teekenen zeer moeielijk was. Toch was de monding van het excretievat (e) en de anaalopening (a) met zekerheid te zien.

Het bedoelde dier bezat eene lengte van 0.29 mm. en eene dikte van 5.3 °/₀l.

Bij een ander insgelijks in de vochtige kamer gecultiveerd beestje kon ik waarnemen, dat het nieuwe dier niet slechts de oude huid loslaat, maar later ook zich noch sterk contraheerde en eene volkomen rimpelige lichaamsoppervlakte verkreeg (fig. 5. V). Te oordeelen naar de veranderingen in uiterlijke gestalte en inwendige structuur bleef dit dier nog 3 dagen in het leven, zonder echter de oude huid te verlaten.

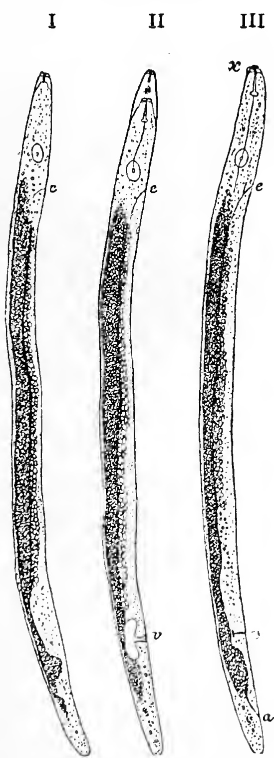


Fig. 6. Vervellingsstadiën van een wijfje van Tylenchus Coffeae 178 maal vergroot. *e*, porus excretorius, *v*, vulva, *a*, anaalopening.

Of in het larvenstadium verscheidene vervellingen plaats hebben, kan ik niet met volkomen zekerheid aangeven. Zeker is het echter, dat later nog eene verdere vervelling volgt, waarbij de geslachtsorganen worden gevormd. Wij willen het eerst de vervelling bespreken, waardoor het geslachtsrijpe wijfje ontstaat.

4. *Vorming en structuur van het wijfje.*

De vervelling, die tot vorming der geslachtsrijpe wijfjes voert, kon ik even als de eerste vervelling der larven onder het microscoop in de verschillendene stadiën vervolgen. Zij begint zoo als gene met een verdwijnen van het achtereinde van den mondstekel. Gelijktijdig verdwijnen ook de oeso-

phagus en het anaaleinde van den darm; deze zijn ten minste aan het levende materiaal niet meer te zien (fig. 6, I). De plaats, waar zich later de vulva (de uitmonding van het vrouwelijk geslachtsorgaan) vormt, is doorzichtig helder. Het vooreinde van het diertje begon in het in fig. 6, I afgebeeld stadium zich juist van de oude huid terugtetrekken.

Vier uren later is dit terugtrekken verder gevorderd en ook reeds het vooreinde van den mondstekel aan den nieuwen kop te herkennen, maar nog zwak lichtbrekend. Na nog 14 uren heeft het vooreinde zich nog iets meer teruggetrokken en de geheele mondstekel is gevormd (fig. 6, II), hoewel nog niet zoo sterk lichtbrekend als gewoonlijk. De vorming der vulva (b) begint. Het kopeinde maakt in de oude huid voortdurend kronkelende bewegingen, terwijl overigens het geheele dier zijne gestalte niet verandert en ook geen bewegingen uitvoert.

Na wederom 24 uren beweegt zich daarentegen het aaltje (fig. 6, III) zeer levendig en kromt zich aanhoudend zoo sterk, dat het niet mogelijk was, het geheele dier met het teekenapparaat optenemen. Het kopeinde is intusschen weer naar voren gerukt tot aan het vooreinde van de oude huid, wier mondapparaat nog vóór het nieuw gevormde mondapparaat ligt, dikwijls een weinig ter zijde verschoven. De mondstekel heeft nu de normale lichtbreking en ook de oesophagus is zichtbaar evenals het anaaleinde (a) van den darm. Verder heeft ook de vorming der uitmonding van het geslachtsorgaan een aanvang genomen. Eenige uren later maakt zich het dier geheel van de oude huid los. Na 24 uren was deze reeds volkomen afgestooten. Slechts de oude kop zat nog met een ringvormig huidstukje op eenigen afstand van het vooreinde op de oppervlakte van het aaltje.

Een volkomen ontwikkeld wijfje is in fig. 7 afgebeeld. Het bezit eene lengte van 0.66 mm. en dezelfde lengte vond ik ook als gemiddelde uit metingen van een aantal andere vrouwelijke dieren. Als gemiddelde voor de dikte vond ik 4.8°/₀ l, voor den afstand der vulva tot het vooreinde 81.2°/₀ l. Bij het in fig. 7 afgebeelde aaltje kan men verder waarnemen, dat het ovarium (u) tot dicht aan den bulbus heenloopt; eene korte verlenging van het vrouwelijke geslachtsor-



Fig. 7. Volwassen wijfje van Tylenchus Coffeae. 178 maal vergroot. *b*, bulbus, *u*, einde van den uterus, *e* eitje, *v*, vulva.

gaan loopt echter ook, even als bij Tylenchus devastatrix volgens Ritzema-Bos (1), van de vulva naar het staarteinde heen.

In het ovarium kan men verder de ontstane eieren waarnemen; deze zijn des te grooter, naarmate zij zich dichter bij de vulva bevinden. In de onmiddellijke nabijheid van de vulva ligt eindelijk een eitje, dat blijkbaar op het punt staat vrij te worden. Het vrij worden zelf heb ik tot nog toe in weerwil van talrijke in dit opzicht uitgevoerde proeven, niet onder het microscoop kunnen waarnemen. De oorzaak hiervan is zeker gedeeltelijk daarin te zoeken, dat de geslachtsrijpe wijfjes gewoonlijk zeer gevoelig zijn en na het isoleeren uit de koffiewortel en overbrengen in de vochtige kamer meestal reeds in weinige uren doodgaan.

In één geval heb ik echter een reeds met een volkomen ontwikkeld eitje voorzien wijfje nog over 20 dagen zien leven, zonder dat een vrij komen van het eitje plaats had. Het schijnt dus, dat zekere tot nog toe niet bekende voorwaarden voor het vrij worden der eieren noodzakelijk zijn.

Om bovengenoemde redenen was het mij ook tot nog toe niet mogelijk uit te maken hoeveel eieren een aaltje kan leggen.

(1) L'anguillule de la tige (Tylenchus devastatrix Kühn) et les maladies des plantes dues à ce Nématode. (Archives du Musée Teyler. Sér. II, Vol III. p. 203).

5. *Vorming en structuur van het mannetje.*

De vorming van de mannelijke geslachtsorganen heeft zeker even als die der vrouwelijke gedurende eene vervelling plaats. Tot mijn spijt was het mij echter nog niet mogelijk, de verschillende stadiën van dit proces onder het microscoop te vervolgen. Wel vond ik eens een reeds met zwak ontwikkelde geslachtsorganen voorzien mannetje, dat, zooals in fig. 8 is afgebeeld, begonnen was zich te vervellen. De nieuwe mondstekel was hier juist in vorming begrepen. De verdere ontwikkelingsstadiën kon ik echter bij dit aaltje niet waarnemen, omdat het bij het praepareeren gedood werd.

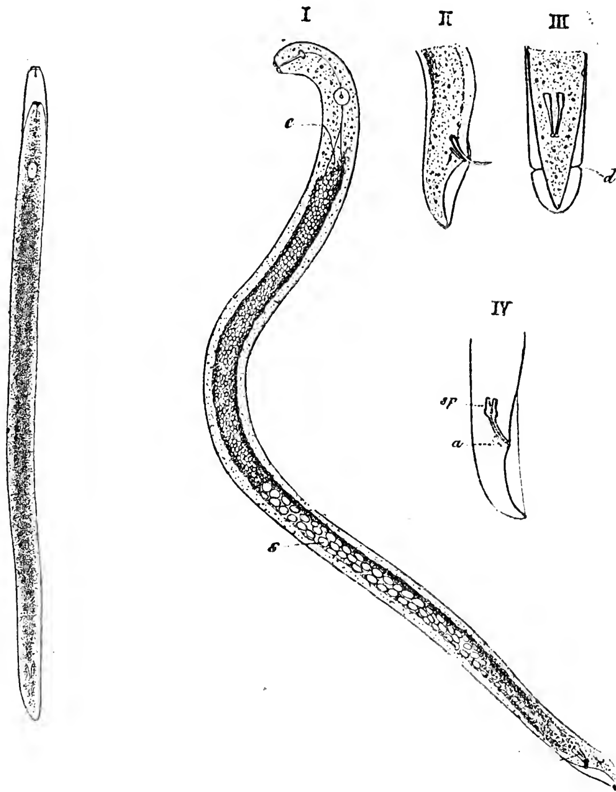


Fig. 8. Vervellingsstadium van een ♂ van Tylenchus Coffeae. 170 maal vergroot.

Fig. 9 Tylenchus Coffeae, volwassen mannetje II—IV achtereinden van andere mannetjes. II op zij gezien, III van de rugzijde gezien IV na behandeling met choraalhydraat, *c* porus excretorius, *s* spermatozoën, *sp* spicula, *a* accessorisch stuk, *d* papille. I 178, II—IV Vergrooting 325.

Zeer dikwijls vindt men echter bij het uitpluizen van aaltjes bevattende wortels volkomen ontwikkelde mannetjes (fig. 9, I). Bij deze bevindt zich de geslachtsopening in tegenstelling met de vulva der vrouwelijke individuen op dezelfde plaats als de anaalopening, dus dicht bij het achtereinde van het aaltje. Men vindt hier twee gebogen lichaampjes de zoogenoemde *spicula* sp, die inzonderheid na de behandeling met chloraalhydraat, waartegen ze een groot weerstandsvermogen bezitten, zeer duidelijk zijn te zien (fig. 9, IV). Men kan verder bij dieren, die door verwarmen of door behandeling met osmiumzuur zijn gedood, dikwijls waarnemen, dat de spicula met het spitse einde uit het lichaam van het aaltje uitsteekt (fig. 9, II). Bij uitzondering heb ik dit ook bij levende dieren gezien.

Bij toepassing van sterke vergrootingen kan men verder behalve de spicula nog een langwerpig lichaampje, het zoogenoemde *accessorische stuk* (fig. 9, IV*a*) waarnemen.

Voor de herkenning der Tylenchus-soorten is verder van groote beteekenis een fijn huidje, dat aan die zijde van het lichaam, waar zich de genitaalopening bevindt, de zoogenoemde *bursa* vormt. Deze is behalve bij Tylenchus slechts nog bij Rhabditis aanwezig; inzonderheid ontbreekt zij bij het in den vorm van den mondstekel met Tylenchus overeenkomend geslacht Heterodera. Aan iedere zijde der bursa kan men verder onder toepassing eener sterke vergrooting eene papil waarnemen, die, zooals in figuur 9, III en 10 (*d*) te zien is, in het midden tusschen de geslachtsopening en het achtereinde van het aaltje is gelegen.

Van de geslachtsklieren is bij de levende dieren meest niet veel te zien. Dikwijls kan

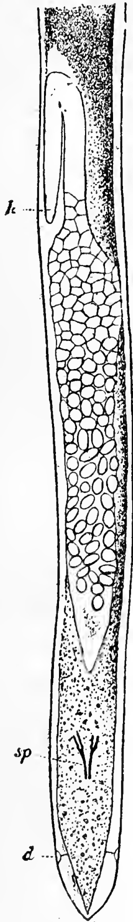


Fig. 10. Het achterste gedeelte van een mannetje van Tylenchus Coffeae. 412 maal vergroot. *h* einde der *sp.* spicula, *d* papille.

men echter toch op eenige doorzichtige plekken (fig. 9, I s) de cellen, waaruit de spermatozoiden zich vormen, herkennen. Zeer duidelijk heb ik eens het geheele verloop van het mannelijke geslachtsorgaan bij een eenige dagen na het overbrengen in de vochtige kamer gestorven aaltje kunnen zien (fig. 10). Men kan hier waarnemen, dat het uiteinde van de geslachtsklier (*h*) naar achter is omgeslagen. Aangaande de afmetingen der mannetjes kan worden gezegd, dat deze iets korter en slanker zijn dan die van de wijfjes. Ik vond als gemiddelde lengte 0.58 mm., als dikte 3.9 $^{0}/_{0}$ l. De anaal- en geslachtsopening was gemiddeld 95 $^{0}/_{0}$ l. van het vooreinde verwijderd.

B. Systematiek.

Volgens de bovenstaande beschrijving kan het niet twijfelachtig zijn, dat het binnen de koffiewortels waargenomen aaltje tot het geslacht Tylenchus behoort, omdat het alle voor dit geslacht karakteristieke eigenschappen (bursa, aan het achtereinde verdikte mondstekel, bulbus enz.) bezit. Eene iets uitvoeriger behandeling schijnt mij daarentegen de vraag te verdienen, of het koffieaaltje inderdaad als nieuwe soort is te beschouwen of met eene reeds beschrevene identisch is. Ten eerste valt in dit opzicht optemerken, dat onze Tylenchus met den door Dr. Janse (1) in de koffiewortels waargenomen en kort beschrevene Tylenchus eene vrij groote overeenkomst vertoont. Dat Janse als lengte 0.44—0.49 mm. aangeeft, terwijl ik 0.56—0.68 heb gevonden, kan misschien daardoor te verklaren zijn, dat de genoemde schrijver niet volkomen ontwikkelde individuen heeft gemeten.

De door Janse aangegeven breedte 3.4—4.7$^{0}/_{0}$l (door mij in $^{0}/_{0}$ omgerekend!) komt met de door mij gevondene (♂ 3.9, ♀ 4.8$^{0}/_{0}$l) goed overeen. Hetzelfde is van de lengte der eieren te zeggen, voor welke Janse en ik 0.054 mm. hebben gevonden. Andere gegevens zijn in de korte mededeeling van Dr. Janse niet te vinden. Evenmin heeft hij ook aan het bedoelde aaltje een naam gegeven en de plaatsing ervan in de systematiek nagegaan.

---

(1) Teysmannia. 1892, p. 317,

Vergelijken wij nu onzen Tylenchus met de andere tot nog toe in de literatuur nauwkeurig beschrevene Tylenchus-soorten, zoo vinden wij, dat hij van bijna allen door den korten staart en de betrekkelijk zeer sterk naar het achtereinde liggende vulva gemakkelijk is te onderscheiden.

Van de 24 in de bekende literatuur beschrevene soorten van Tylenchus door COBB (1) bijeengebracht, vertoont in dit opzicht slechts Tylenchus pratensis DE MAN dezelfde verhouding, terwijl de 5 later door COBB (2) beschrevene nieuwe soorten in den bouw der genoemde organen betrekkelijk sterk afwijken.

Eene zekere overeenkomst vertoont echter nog de door SOLTWEDEL (3) in de wortels van het suikerriet ontdekte Tylenchus Sacchari. Verder is er zoover mij bekend slechts nog eene opgaaf van J. VANHA en STOKLASA (4), die in verschillende europeesche cultuurgewassen een vrij groot getal van nieuwe Tylenchus-soorten hebben ontdekt. Van deze soorten zijn er echter in het geciteerd geschrift slechts 3 nader beschreven en deze stemmen met Tylenchus Coffeae zeker niet overeen.

Wij hebben dus slechts het hovenbeschreven koffieaaltje met Tylenchus pratensis DE MAN en Tylenchus Sacchari SOLTWEDEL te vergelijken.

1. *Tylenchus pratensis* werd tot nog toe slechts door DE MAN (5) in Nederland en Engeland gevonden. Hij is ook daar volgens DE MAN niet menigvuldig en bewoont de vochtige zuivere of meer zandige aarde der weiden of drassige gronden. Men zoude dus reeds naar het verschil in voorkomen van Tyl. pratensis en Coffeae eene identiteit der beide soorten voor onmogelijk kunnen houden. Ik wil echter in dit opzicht slechts naar Heterodera radicicola verwijzen, die in Europa en op Java in zeer verschillende gewassen wordt

(1) Agricultural Gazette of New South Wales. 1890 p. 167.

(2) Plant Diseases and their Remedies (New. South. Wales Dep. of Agric. 1893).

(3) Tijdschr. v. Land- en Tuinbouw en Boschcultuur in Ned. Oost-Indië. 1888, Jaarg. 3, p. 158.

(4) Die Rüben Nematoden (Heterodera, Dorylaimus und Tylenchus) mit Anhang über die Enchytraeiden. Berlin, 1896. p. 77.

(5) Tijdschr. d. Nederl. Dierk. Vereenig. 1881 Deel V. p. 143 en Die frei in der Erde und im Süsswasser lebenden Nematoden p. 147.

aangetroffen. Verder is ook tusschen parasitaire en vrij in den grond levende soorten geene scherpe grens te trekken, omdat zeker vele van de gewoonlijk binnen zekere plantendeelen levende soorten ten minste tijdelijk ook vrij in de aarde kunnen leven. Als onmogelijk kan dus het behooren van het koffieaaltje en Tylenchus pratensis tot dezelfde soort niet worden aangezien, alhoewel het niet waarschijnlijk is, dat een tot nog toe slechts zeer zeldzaam in Europa gevonden aaltje in de tropen als een zoo gevaarlijke parasiet zoude optreden. Bovendien zijn er ook zekere — alhoewel niet zeer in het oog vallende — verschillen tusschen de beide soorten voorhanden.

Zoo is de lengte van Tylenchus pratensis (♂ 0.45, ♀ 0.6 mm.) iets geringer dan die van Tyl. Coffeae (♂ 0.58, ♀ 0.66); nog iets grooter is het verschil in de breedte (T. pratensis: 3.3—4.0% l en T. Coffeae ♂ 3.9, ♀ 4.8% l). Verder is het staarteinde van het geslachtsrijpe mannetje bij T. pratensis volgens de teekening van de Man minder spits en van eene grootere bursa voorzien, dan bij het koffieaaltje het geval is. Eene afdoende beslissing over de identiteit zoude slechts door cultuurproeven zijn te verkrijgen. Gaven deze een positief resultaat, dan zoude natuurlijk het koffieaaltje niet meer Tylenchus Coffeae, maar Tylenchus pratensis de Man genoemd moeten worden. Voor de praktijk is echter deze vraag niet van belang.

2. Praktisch belangrijker schijnt mij daarentegen de andere vraag, of het koffieaaltje met den door Soltwedel in het suikerriet ontdekten *Tylenchus Sacchari* identisch is.

Deze werd door *Soltwedel* (1) nauwkeurig beschreven en afgebeeld, bovendien geeft ook *Krüger* (2) afbeeldingen ervan, maar zoo ver ik kon uitmaken zonder beschrijving.

Volgens deze opgaven bezit Tylenchus Sacchari evenals onze Tylenchus eenen zeer korten en stompen staart en ook de vulva ligt zeer sterk naar het achtereinde toe. Ook de in navolgende tabel samengestelde nauwkeurige afmetingen verschillen blijkbaar niet veel van elkaar.

---

(1) l. c.

(2) Berichte der Versuchsstation f. Zuckerrohr in West-Java. 1890. Heft 1.

		Tylenchus Sacchari.		Tylenchus Coffeae.
		v. Soltwedel.	v. Krüger.	
lengte.	♀	0.58-077 mm.	0.81 mm. (1)	0.63-0.68 mm.
	♂	0.71 mm.	0.78 mm. (1)	0.56-0.61 mm.
breedte	♀	3.9 °/₀ l.	4.3 °/₀ l.	4.8 °/₀ l.
	♂	3.6 "	3.1 "	3.9 "
staart lengte. . . .		7.7 "	♀ 5, ♂ 8 °/₀ l.	4.8 "
afstand tusschen vulva en vooreinde.		80 "	86.5 °/₀ l.	81.2 "
mondstekel		0.012 mm.	—	0.015 mm.

Ik moet hierbij nog opmerken, dat de cijfers van Soltwedel op directe metingen berusten en door mij slechts gedeeltelijk in procenten zijn omgerekend, terwijl de cijfers van Krüger uit de figuren onder inachtneming van de aangegeven vergrooting zijn bepaald. Van deze cijfers moeten dus wel die van Soltwedel het meeste vertrouwen verdienen.

Bij de vrij groote overeenkomst tusschen de cijfers voor de beide verschillende aaltjes, zoude men deze wel voor identiek kunnen houden en de niet zeer belangrijke verschillen op onjuistheid der metingen of eene zekere variabiliteit — inzonderheid bij den overgang in eene andere plant — terugvoeren.

Aan de andere zijde zijn er echter eenige eigenschappen, in welke de beide aaltjes zoo zeer van elkaar verschillen, dat de gedachte aan waarnemingsfouten volstrekt is uitgesloten en ook variaties — in zoover onze onvolmaakte kennis in dit opzicht een oordeel mogelijk maakt — zeer onwaarschijnlijk zijn.

In de eerste plaats noem ik de plaats, waar het excretievat naar buiten uitloopt. Bij Tylenchus Sacchari ligt deze uitmonding

(1) Belangrijk grootere cijfers geeft *Cobb* (Plant Dis. and their Rem. p. 31) voor de lengte van Tylenchus Sacchari aan (♀ 1.C4 mm, ♂ 0.98 mm.) en citeert hierbij eveneens *Krüger* als auteur, terwijl zijne andere cijfers met die der middelrij van de bovenstaande tabel overeenkomen. Daar *Cobb* de literatuur niet citeert, is het mij niet mogelijk te constateeren, of hier eene vergissing bestaat.

volgens de opgaven van Soltwedel op zeer geringe afstand van het kopeinde, namelijk 0.027 mm., terwijl deze afstand bij het koffieaaltje gemiddeld 0.08 mm. bedraagt en slechts zeer geringe afwijkingen daarvan vertoont. Daar de uitmonding nu van het excretievat — zooals reeds werd medegedeeld — bij oudere larven en geslachtsrijpe dieren zonder moeite is waartenemen, zijn de twee soorten van aaltjes door dit kenteeken gemakkelijk en zeker te onderscheiden.

In de tweede plaats is de grootte en vorm der eieren te noemen. Voor deze geeft Soltwedel op, dat zij gemiddeld 0.1 mm. lang en 0.025 mm. breed zijn, terwijl ik bij de eieren van Tylenchus Coffeae eene lengte van slechts 0.054 mM. en eene breedte van 0.025 mM. kon waarnemen. Terwijl dus de eieren van Tylenchus Sacchari 4 maal zoo lang als breed zijn, zijn die van het koffieaaltje ongeveer 2 maal zoo breed en absoluut genomen slechts half zoo lang als die van het suikeraaltje. Deze verschillen zijn zeker te groot om als waarnemingsfouten te kunnen gelden.

Eindelijk bestaat er een verschil tusschen de beide soorten van Tylenchus in den bouw der bursa en misschien ook der spicula. Omtrent de bursa van Tylenchus Sacchari zegt Soltwedel: zij „is zeer klein en laat het uiteinde van den staart vrij,'' in overeenstemming ihermede eindigt ook in de door Soltwedel afgebeelde profielligging de bursa ongeveer in het midden van den staart, terwijl ze in de eveneens afgebeelde rugligging geheel niet te zien is. Daarentegen gaat de bursa van Tylenchus Coffeae tot aan het einde van den staart en is juist in de rugligging bijzonder goed te zien (cf. p. 29 en fig. 9). Omtrent de spicula van Tylenchus Sacchari zegt Soltwedel slechts, dat zij zeer duidelijk zijn; volgens de afbeeldingen hebben zij een conischen en vrij plompen vorm, terwijl die van Tylenchus, zoo als uit de afbeeldingen (fig. 9) duidelijk te zien is, betrekkelijk fijn en lang zijn.

Volgens het bovenstaande schijnt het mij dus zeker, dat het koffieaaltje met Tylenchus Sacchari niet tot dezelfde soort behoort.

IV. INFECTIEPROEVEN.

In het volgende zal eene reeks van infectieproeven worden beschreven, die ik in het afgeloopen halve jaar in den proeftuin der IXe afdeeling van 's Lands Plantentuin heb uitgevoerd en die als bevestiging kunnen worden beschouwd voor de in het voorloopig rapport waarschijnlijk gemaakte meening, dat nematoden de oorzaak eener wortelziekte van de koffie zijn. Ik ben bij deze proeven op zoodanige wijze te werk gegaan, dat ik jonge Java- en Liberia-koffieplanten, die in Buitenzorg (waar ik Tylenchus Coffeae tot nog toe nog nooit heb gevonden) uit zaad waren geteeld en bij het begin der proeven een geheel gezond wortelstelsel bezaten, in potten met aaltjes infecteerde. Het voor deze infecties benoodigde materiaal werd mij door drie verschillende koffieondernemingen met de grootste bereidwilligheid ter beschikking gesteld en bestond uit koffieplanten, waarvan de wortels uiterlijk de verschijnsels der aaltjesziekte vertoonden en ook volgens het microscopisch onderzoek zeer talrijke aaltjes bevatten, en uit grond, die uit de omgeving van blijkbaar aaltjeszieke koffieplanten afkomstig was.

Bij eenige proeven werd nu in denzelfden pot eene aaltjeszieke en eene of eenige gezonde planten geplant. In andere potten bracht ik slechts gezonde planten, maar dicht bij hare wortels wortelstukken, die volgens het microscopisch onderzoek aaltjes bevatten. Eindelijk heb ik ook bij eenige proeven slechts de wortels der gezonde planten met iets van den besmetten grond bestrooid. In 't geheel werden op deze wijze 34 Java- en 17 Liberia-planten met nematoden in aanraking gebracht.

De bedoelde planten werden op eene in den proeftuin opgerichte steenen tafel gebracht, waar zij tegen regen en te sterke zon door een dak van palmbladeren waren beschermd. Buitendien stonden alle potten op eene groote plaat van zink, waarvan de rand was omgebogen, om te belemmeren, dat bij het begieten iets van den besmetten

grond naar buiten gebracht werd en zoo eene infectie van den proeftuin zoude veroorzaken.

Om dezelfde reden werden ook de planten altijd binnen het laboratorium en onder de noodige voorzorgen geplant of uit de potten gehaald, wanneer dit voor het onderzoek noodig was.

Met het onderzoek der proefplanten begon ik eenige weken na het inplanten. Het wortelstelsel der bedoelde planten werd hierbij altijd goed afgespoeld zoodat eventueele verkleuringen der haarwortels dadelijk konden waargenomen worden. Verdachte gedeelten werden dan microscopisch onderzocht, nadat zij met spelden of iets dergelijks in eenen waterdruppel uiteengehaald waren.

Bij deze eerste proefnemingen werden echter slechts zeer zeldzaam eenige weinige nematoden in de wortels gevonden. In het algemeen hadden ook eenige latere proeven hetzelfde resultaat. Eerst na c. 3½ maand werd de infectie in grootere verspreiding aangetroffen en werden nu alle planten nauwkeurig onderzocht. Het resultaat van dit onderzoek was, dat van de 43 Java-Koffie-planten 31 (dus 72°/₀) meer of minder sterk geïnfecteerd waren, terwijl 12 (28°/₀) een nog volkomen gezond wortelstelsel bezaten. Van de 17 Liberia's waren daarentegen slechts 3 (18°/₀) geïnfecteerd.

Van de reeds zieke planten werd nu een gedeelte voor het onderzoek der ontwikkelingsgeschiedenis van Tylenchus Coffeae en voor verschillende proeven gebruikt, terwijl de andere planten na 2 maanden nog eens nauwkeurig werden onderzocht. Het aantal der in het geheel geïnfecteerde Javaplanten bedroeg nu 41 (95°/₀), maar ook bij de Liberia-planten was dit cijfer betrekkelijk sterk gerezen: op 10 (59°/₀).

Uit deze cijfers volgt in de eerste plaats, dat de Java-koffie veel sneller door de aaltjesziekte wordt aangetast, dan de Liberia-koffie, wat in overeenstemming is met de in de koffietuinen opgedane ondervinding, dat op de in het voorloopig rapport nader gekarakteriseerde plekken het inboeten met Java-koffie nooit, maar dat met Liberia gewoonlijk wel slaagt. Hierbij kan nog worden gevoegd, dat ook bij de tweede proef, waarbij het getal geïnfecteerde Liberiaplanten betrekkelijk groot was, de hevigheid der infectie bij de verschillende individuen gering was in vergelijking met de meeste Java-

planten. Dit verschil zoude echter moeilijk in cijfers te brengen zijn en ik heb ook hierop niet veel prijs gesteld, omdat men toch in het oog moet houden, dat alle planten door het groeien in de betrekkelijk kleine potten en het voor de proefnemingen noodige uit de potten nemen meer of min in ongunstige omstandigheden verkeeren en dikwerf ook eenigszins beschadigd worden, waardoor zij op den duur meer vatbaar worden voor de infectie. Misschien is dit ook de oorzaak, dat van de Liberia-planten allengskens zoo vele zijn geïnfecteerd.

De grootere vatbaarheid der Java-planten wordt echter ook door de volgende proef zeer duidelijk bewezen: Op den 11 Aug. '97 werden in denzelfden betrekkelijk grooten pot 5 Java- en 2 Liberia-planten gebracht tegelijk met eenen afstervenden en volgens het microscopisch onderzoek aaltjes bevattenden soelaman, die mij van eene koffieonderneming was toegezonden, voorts nog aaltjes bevattende worteldeelen van eenen andere soelaman en grond van aaltjesplekken. Bij een eerste onderzoek op den 20 Oct., vond ik reeds in 3 van de Javaplanten Tylenchus Coffeae, in de Liberiaplanten echter niet. De planten werden na het onderzoek weder in de potten gezet en den 23 Nov. weder nauwkeurig onderzocht. Nu trof ik in alle 5 Javaplanten Tylenchus Coffeae aan, terwijl de beide Liberia's een zeer gezond wortelstelsel bezaten en volkomen vrij waren van Tylenchus. Ik bracht nu de beide Liberia-planten op de plek, waar vroeger de Javaplanten gestaan hadden en plantte deze dicht erbij. Desniettegenstaande waren den 28/1-98 de beide Liberia-planten nog geheel zonder aaltjes, terwijl de Javaplanten bijna geene gezonde wortels meer bezaten en ook de boven den grond zich bevindende deelen begonnen aftesterven.

Bij deze proeven werd opgemerkt, dat de ziekte altijd het eerst alleen jonge nog niet door eene kurklaag bedekte wortels aantast. Daar ik bij deze proeven gelegenheid had, zeer dikwijls het begin der infectie waartenemen, kon ik mij hiervan met groote zekerheid overtuigen. De geïnfecteerde wortels verliezen langzamerhand hare witte kleur, worden eerst geelachtig en later bruin. Deze kleurverandering gaat dan voort naar de oudere worteldeelen, terwijl de het eerst geïnfecteerde worteldeelen afsterven en verrotten. Dit

afsterven kan zich met der tijd tot aan den wortelhals uitbreiden. Bij eene zeer jonge Javaplant werd ook nog iets van den stengel gedood.

Van een bijna tot aan den wortelhals gedood wortelstelsel is in Plaat I aan het slot dezer mededeeling eene photographisch vervaardigde afbeelding gegeven. De donker zich voordoende wortels waren ook bij de bedoelde plant donker bruin en meer of min verrot. Slechts geheel boven aan den wortelhals zijn nog eenige witte wortels waartenemen, die echter zeker binnen kort ook door de aaltjes zouden gedood zijn. Deze waren, zooals door microscopisch onderzoek werd aangetoond, in dat gedeelte van den penwortel, dat dicht onder de nog gezonde haarwortels was gelegen, in groote hoeveelheden te vinden.

Aan hare bovenaardsche deelen vertoonden de in eenigszins hevigen mate door de aaltjes geteisterde planten eene betrekkelijk zwakkere ontwikkeling en ofschoon tot nog toe slechts in een geval de geïnfecteerde plant volkomen gedood werd, zoo hadden toch verschillende van de Javaplanten slechts zoo weinig wortels, dat zij eene eenigszins lange droogte zeker niet zouden hebben doorstaan. Hoe lang zij bij het regelmatige begieten nog zullen leven, schijnt mij met het oog op de in verschillende opzichten abnormale cultuurvoorwaarden zonder belang Daarentegen is het van veel waarde te hebben geconstateerd, dat de uitwendige ziekteverschijnselen, die bij deze kunstmatige infecties werden waargenomen, volkomen overeenstemmen met hetgeen ik vroeger op de in het voorloopig rapport nader gekarakteriseerde plekken aantrof.

Bij het *microscopisch onderzoek* der zieke wortels vond ik nu wel is waar niet slechts Tylenchus Coffeae, maar ook verschillende andere nematoden, die zoover ik ze tot nog toe kon determineeren, tot de geslachten Tylenchus, Aphelenchus, Cephalobus, Dorylaimus en Rhabditis behooren. De meesten van deze heb ik echter slechts in wortels waargenomen, die blijkbaar reeds sedert eenigen tijd geïnfecteerd en meer of min verrot waren, terwijl Tylenchus Coffeae, evenals bij de op de koffieondernemingen onderzochte planten, juist in die worteldeelen in grootere hoeveelheden is waartenemen, waar de infectie kort geleden heeft plaats gehad. Dikwijls vond ik zelfs in de reeds bruin verkleurde worteldeelen geene exemplaren

van Tylenchus Coffeae, terwijl deze in de iets meer naar boven toe gelegene, nog wit gekleurde gedeelten in groote hoeveelheden en in alle ontwikkelingsstadiën van het ei tot de geslachtsrijpen dieren aanwezig waren. Zij waren hier zóó talrijk, dat men wel kan begrijpen, hoe zij in weerwil van hare geringe grootte de geïnfecteerde wortels doen sterven.

Slechts ééne soort van nematoden, den in het volgend hoofdstuk dezer mededeeling beschrevenen *Cephalobus brevicaudatus* heb ik bijna zonder uitzondering als begeleider van Tylenchus Coffeae aangetroffen. Dit is des te eigenaardiger, daar bedoelde soort geen mondstekel bezit en van de zoodanige soorten tot nog toe algemeen beweerd werd, dat zij slechts saprophytisch (1) leven en aan de plantenwortels geen kwaad doen. Om nu de rol, die deze soort — en eventueel ook andere — in de koffiewortels waargenomen nematoden bij de beschrevene ziekte spelen, met volkomen zekerheid te leeren kennen, zoude het noodzakelijk zijn, de infectieproeven op zoodanige wijze uittevoeren, dat de in gesteriliseerde aarde gebrachte planten met zuivere culturen van de verscheidene aaltjes worden geïnfecteerd. Deze bij de meeste schimmels zonder veel moeite toetepasen infectie-manier is bij de nematoden met onderscheidene, technische moeielijkheden verbonden, die ik tot nog toe niet heb kunnen overwinnen. Overigens zijn ook in Europa — zoo ver mij bekend — nog nooit zuivere culturen van eene enkele Nematoden-soort verkregen en bij infectieproeven toegepast. Niettemin heb ik het voornemen deze proeven voorttezetten, om zoo over de pathologische beteekenis der verschillende in de koffiewortels gevondene aaltjes met volkomen zekerheid een oordeel te kunnen uitspreken. Dit schijnt mij ook voor de praktijk niet zonder waarde. De vraag of een bepaalde grond voor de koffiecultuur gevaarlijke aaltjes bevat, is slechts dan met volle zekerheid te beantwoorden, wanneer men de gevaarlijke soorten van de overal in den grond verspreide ongevaarlijke nauwkeurig kan onderscheiden.

Nog zij opgemerkt, dat ik *schimmeldraden* in de geïnfecteerde wortels nooit in zoo groote hoeveelheden heb waargenomen, dat zij als ziekteoorzaak beschouwd zouden kunnen worden. Bij het groot

(1) Saprophytisch = op halfvergane planten levende.

aantal van geïnfecteerde wortels, dat ik bij deze proeven onderzocht, zoude het tegendeel mij zeker zijn opgevallen; met zekerheid kan ik dus beweren, dat schimmels bij de ziekte in quaestie geene rol spelen.

Van *dieren* heb ik behalve Nematoden in eenige gevallen *wortelmijten* en *Enchytraeiden* in de afstervende worteldeelen waargenomen. Het is wel waarschijnlijk, dat de eersten voor de wortels schadelijk zijn. Aangezien zij echter in de meeste wortels *niet* aanwezig waren, kunnen ze bij deze infectieproeven slechts eene zeer ondergeschikte rol hebben gespeeld. Het schijnt mij dus ook niet noodzakelijk, hier eene uitvoerige beschrijving dezer dieren te geven. Om echter hen, die zelf mikroskopische studiën maken willen, in dit opzicht eenigszins te orienteeren, heb ik in fig. 11 eene jonge mijt afgebeeld, van die soort, welke ik niet slechts bij de infectieproeven, maar ook bij op de koffieondernemingen gedane onderzoekingen vrij dikwijls heb aangetroffen. De oudere dieren onderscheiden zich van deze larven, behalve door hunne grootere gedaante bovenal daardoor, dat zij 8, in plaats van 6 pooten bezitten.

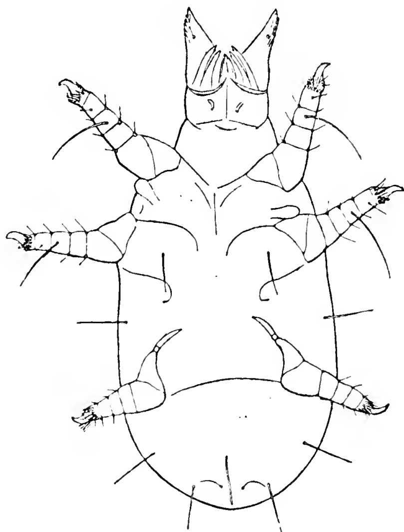


Fig. 11. Mijtenlarve uit een koffiewortel. Na opgeklaard te zijn door chloraalhydraat. 325 maal vergroot.

Over de vraag, of deze dieren schadelijk zijn voor de koffieboomen, heb ik wel is waar reeds eenige proeven genomen, maar ik ben in dit opzicht nog niet tot bepaalde uitkomsten geraakt. Mededeelingen dienaangaande uit de praktijk zouden mij derhalve zeer aangenaam zijn.

Eenige van verschillende schrijvers afkomstige gegevens over de schadelijkheid der *Enchytraeiden* heb ik kort geleden elders (*)

(*) Teysmannia 1898.

samengesteld. Naar die korte mededeeling neem ik de vrijheid te verwijzen, terwijl ik hier slechts in herinnering breng, dat ik de Enchytraeiden bij infectieproeven in tegenstelling met Tylenchus Coffeae slechts in meer of minder verrotte wortels heb gevonden en dat ik mij tot nog toe niet van de schadelijkheid dezer dieren heb kunnen overtuigen. Verdere onderzoekingen in dit opzicht zijn echter wenschelijk.

De resultaten van mijne infectieproeven mogen ten slotte nog eens in de volgende regels tezamen gevat worden:

De in de koffietuinen von Oostjava vrij algemeen verspreide wortelziekte, die in hoofdzaak daardoor is gekenmerkt, dat zij het eerst de jonge wortels aantast en zich van daar langzamerhand over het geheele wortelstelsel verspreid, de aangetaste gedeelten bruin verkleurend, kan ook door kunstmatige infectie op gezonde planten worden overgebracht. Zoowel in het bij deze proeven gebruikte materiaal als ook in de ziek wordende wortels konden van schadelijke organismen slechts nematoden constant worden waargenomen. Van de verschillende soorten van deze nematoden zijn slechts Tylenchus Coffeae en Cephalobus brevicaudatus algemeen in die worteldeelen verspreid, die beginnen aftesterven.

Daar bij deze proeven andere schadelijke organismen niet konden gevonden worden, terwijl speciaal van het geslacht Tylenchus verschillende soorten bekend zijn, die voor andere cultuurgewassen zeer schadelijk zijn, kan men dus niet meer daaraan twijfelen, dat Tylenchus Coffeae als een zeer schadelijke parasiet der koffiewortels is te beschouwen.

Als een voor de *praktijk* belangrijk resultaat wil ik er ten slotte nog op wijzen, *dat volgens de boven beschreven infectieproeven ook alleen door aaltjes bevattenden grond eene overbrenging der ziekte kan worden veroorzaakt.*

V. OVER VERSCHILLENDE ANDERE IN DE KOFFIEWORTELS GEVONDENE NEMATODEN.

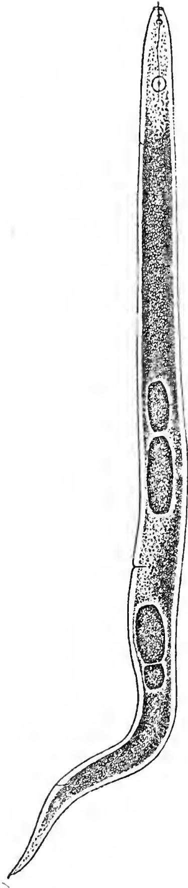
Nadat wij in het derde hoofdstuk van deze mededeeling Tylenchus Coffeae, als het meest verspreidde en schadelijke koffieaaltje uitvoerig hebben besproken, wil ik nu eenige andere nematoden, die ik in zieke koffiewortels in meer of minder grooten getale heb aangetroffen, beschrijven. Wel geloof ik, dat door een over een grooter aantal verschillende streken uitgestrekt onderzoek nog andere aaltjes in de koffiewortels gevonden zullen worden. In hoofdzaak echter zullen dit wel meer sporadisch voorkomende soorten zijn, die voor de praktijk van ondergeschikte beteekenis zijn. Maar het tegendeel is natuurlijk niet uitgesloten, vandaar dat ik elk verdacht materiaal aan een onderzoek zoude willen onderwerpen. De toezending daarvan kan volgens de intusschen opgedane ondervinding het best zoodanig geschieden, dat de versche levende wortels — zoo mogelijk het geheele wortelstelsel — met grond, eventueel omwikkeld met eenige pisangbladeren, in een kistje of zoo iets verpakt worden. De bovenaardsche deelen kunnen te voren verwijderd worden Ook ben ik natuurlijk gaarne bereid, aan allen, die bij het determineeren der koffieaaltjes met behulp der navolgende mededeeling op moeilijkheden stuiten, zoo veel als ik vermag, nadere inlichtingen te geven.

I. Tylenchus.

Behalve den boven uitvoerig beschreven Tylenchus Coffeae vond ik bij mijne infectieproeven in eenige koffieplanten en gedurende mijne laatste reis op verscheidene koffieondernemingen van Oost-Java nog eene andere soort van Tylenchus, die ik als T. acutocaudatus aanduid

Tylenchus acutocaudatus sp. n.

Tylenchus acutocaudatus onderscheidt zich van Tylenchus Coffeae


Fig 12. Wijfje van Tylenchus acutocaudatus. 178 maal vergroot.

in de eerste plaats daardoor, dat hij eenen aanzienlijk langeren en aan het einde puntigen staart bezit (fig. 12). Verder ligt bij de wijfjes, die met de larven tot nog toe alleen zijn aangetroffen, de geslachtsopening veel meer naar het vooreinde: de gemiddelde afstand daarvan bedroeg 59°/₀ l. (T. Coffeae 81.20°/₀ l.). Verder bestaat de uterus uit 2 symmetrische armen, waarvan de eene naar voren, de andere naar achteren gericht is.

Buitendien kan tot karakteriseering van Tylenchus acutocaudatus nog worden medegedeeld, dat de in vrij grooten getale gevonden wijfjes eene lengte van 0.70 mm. bezitten. De dikte was bij deze gemiddeld 5 2°/₀ l. De dwarsche streepen der huid waren vrij duidelijk te zien. De mondstekel heeft eene lengte van 2°/₀ l. en draagt aan het achtereinde eene vrij sterke verdikking. In chloraalhydraat wordt, zoo als bij den T. Coffeae, de achterste helft veel sneller opgelost dan de voorste.

De porus excretorius ligt 14°/₀ l. van het vooreinde verwijderd. De puntige staart is gemiddeld 11°/₀ l lang.

Van de door *Cobb* (1) bijeengebrachte 24 soorten van Tylenchus is onze soort door middel van de boven aangegeven kenteekenen gemakkelijk te onderscheiden, evenzoo ook van de andere op bladz. 30 genoemde soorten, zoodat ik aan de gevonden soort eenen nieuwen naam moest geven.

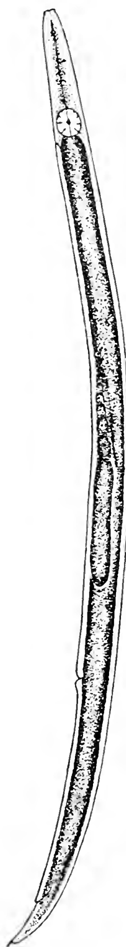
II. Aphelenchus Bastian.

Het geslacht Aphelenchus wordt in hoofdzaak daardoor van het geslacht Tylenchus onderscheiden, dat de bulbus aan het einde

(1) Agricult. Gaz. of New S. Wales 1890, Vol. 1, p. 167.

van den oesophagus en de porus excretorius dicht achter den bulbus zich bevindt en dat de mannetjes geene bursa bezitten.

In de literatuur zijn tot nog toe, zooveel mij bekend, 14 soorten van dit geslacht beschreven, waarvan 13 door Cobb. (1) worden behandeld. Bovendien is eene soort (A. nivalis) door *Aurivillius* (2) in Spitzbergen gevonden. De meesten van deze 14 soorten leven parasitisch. Ik vond nu eene soort daarvan vrij dikwijls in de afstervende deelen van koffiewortels en wil deze onder den naam Aphelenchus Coffeae beschrijven.


Fig. 13. Wijfje van Aphelenchus Coffeae 320 maal vergroot.

Aphelenchus Coffeae sp. n. (fig. 13).

Tot nog toe heb ik van deze soort slechts larven en wijfjes kunnen vinden. De laatsten bezaten eene lengte van 0.35—0.47 mm. en eene breedte van gemiddeld 4.25°/₀ l. Eene dwarsstreeping was aan de huid niet duidelijk waartenemen. Zeer goed zijn daarentegen de beide zijmembranen te zien, ze zijn vrij smal, en bezitten ongeveer een breedte gelijk aan een vijfde van den diameter van het aaltje. De 2.5°/₀ l. lange mondstekel is betrekkelijk fijn en bezit aan het achtereinde eene slechts zeer zwakke verdikking. In chloraalhydraat wordt even zoo als bij Tylenchus het achtereinde spoediger opgelost dan het vooreinde. De aan het einde van den oesophagus gelegen bulbus is betrekkelijk groot en bijna evenzoo breed als het diertje zelf. Zijn achtereinde bevindt zich gemiddeld op eenen afstand van 13 °/₀ l. van het mondeinde. De porus excretorius ligt, zooals Fig. 13 doet zien, dicht achter den bulbus. De vulva is gemiddeld 70 °/₀ l. van het kopeinde verwijderd. De staart bezit eene lengte van 6.1°/₀ l.

(1) Agricultural Gazette New South Wales. 1891. Vol. 2. p. 394.
(2) Bihang till K. svenska Vet. Akad. Handlingar. Bd. 8. No. 11.

en draagt bij de larven en wijfjes een fijn spitsje. Papillen waren daaraan niet te zien.

Van de in de literatuur beschreven soorten van Aphelenchus vertoont met de boven beschreven *A. rivalis* Bütschli nog de meeste overeenkomst. Daar echter van deze soort, die op steenen in den Main gevonden werd, tot nog toe slechts de mannetjes beschreven zijn, terwijl ik tot heden slechts wijfjes heb gevonden, was het niet mogelijk uit te maken, of deze, trouwens op zoo geheel verschillende plaatsen levende soorten, identisch zijn of niet.

III. Cephalobus.

De verschillende soorten van het geslacht Cephalobus zijn van die der geslachten Tylenchus en Aphelenchus gemakkelijk daardoor te onderscheiden, dat zij geenen mondstekel bezitten. De mondholte of pharynx (cf. fig. 14, I en II) heeft bij hen eene kegelvormige gedaante en bezit chitineuse wanden, die hier en daar verdund en elders weder verdikt zijn. Daardoor doet zich de optische doorsnede voor als een tweetal nu eens verdikte, dan weder dunnere staafjes. Verder is voor het geslacht Cephalobus karakteristiek, dat de het einde van den oesophagus vormende bulbus een eigenaardig kleptoestel bevat, waarvan men bij levende, zich niet al te vlug bewegende dieren dikwijls zeer goed de periodieke bewegingen kan waarnemen. Voorts zij nog gezegd, dat bij de mannetjes van Cephalobus eene bursa niet aanwezig is.

In de monographie van de Man (1) zijn 10 verschillende soorten van Cephalobus beschreven, die alle in vochtige aarde of op wortels van gras en andere gewassen leven. Hetzelfde geeft de Man (2) voor den door hem beschreven *Cephalobus Bütschlii* op, terwijl de door Oerley (3) voor het eerst beschreven C. *gracilis* volgens dezen schrijver op stelen van paddestoelen leeft. Slechts voor *Leptodera rigida Schn.* (= Cephalobus rigidus) wordt door Schneider (4) medegedeeld, dat hij behalve in vochtige aarde ook op rottende stoffen voorkomt. Des te zonderlinger is het, dat in de koffiewortels twee

(1) l. c. p. 89.
(2) Tijdschrift d. Nederl. Dierk. Vereenig. 1885. Ser. II, Deel 1, p. 20.
(3) Monographie der Anguilluliden. Budapest. 1880. p. 163.
(4) Monographie der Nematoden Berlin. 1866. p. 161.

soorten van Cephalobus zeer verspreid zijn en bovendien niet slechts in die deelen, welke reeds in verrotting zijn overgegaan, maar ook in blijkbaar eerst kort geleden aangetaste en nog volkomen wit gekleurde wortels, waar zij zich bijna zonder uitzondering in gezelschap van Tylenchus Coffeae bevinden.

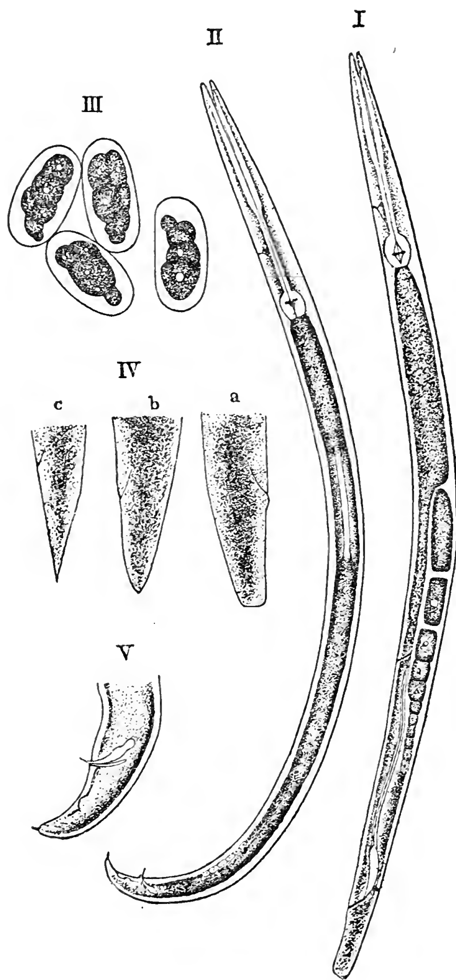


Fig. 14. Cephalobus brevicaudatus I. ♀; II. ♂; III. Eieren; IV. Staart van verscheidene wijfjes. V. Staart van een ♂. I en II 178, III 310, IV en V 390 maal vergroot.

Van de 2 soorten van Cephalobus, die ik tot nog toe heb gevonden, schijnt de door mij C. brevicaudatus genoemde de grootste verspreiding te bezitten en willen wij dus met deze beginnen.

1. *Cephalobus brevicaudatus sp. n.*

Van de door mij gemeten aaltjes bezaten de wijfjes eene lengte van 0.63—0.78 mm , de mannetje van 0.61—0.74 mm. De dikte bereikt bij de geslachtsrijpe wijfjes het betrekkelijk hooge cijfer van 6,2°/₀ l., terwijl ik bij de mannetjes niet meer dan 4.2°/₀ l. kon waarnemen.

De membraan is bij de volwassen aaltjes duidelijk dwarsgestreept; bij een zoodanig wijfje vond ik voor den afstand der dwarsche strepen c. 0.002 mm. De kop is niet scherp begrensd ten opzichte van het

overige lichaam, ook kon ik geene papillen daaraan waarnemen. De met plaatselijke verdikkingen voor ziene mondholte gaat naar achteren in den oesophagus over, die eerst wat wijder wordt, dan naar het achtereinde toe zich vrij plotseling aanzienlijk vernauwt en dan tot aan den bulbus gelijkmatig nauw blijft (fig. 14, I en II). De bulbus bevat een klepinrichting en is bijna bolvormig. De grens tusschen bulbus en darm vond ik bij de ♀ 23, bij de ♂ 25°/₀ l, de uitmonding van den darm bij de ♀ gemiddeld 93.1, bij de ♂ 95°/₀ l van het vooreinde der dieren verwijderd. De porus excretorius is betrekkelijk gemakkelijk te zien en is gemiddeld 17°/₀ l van het vooreinde van het aaltje verwijderd.

Bij het wijfje ligt de geslachtsopening gemiddeld 64°/₀ l van het vooreinde verwijderd. Het ovarium, waarvan in fig. 14, I slechts een gedeelte is te zien, is waarschijnlijk twee keer omgeslagen, zijn verloop is echter aan het levende of door verwarming gedoode materiaal niet met zekerheid te vervolgen.

De staart bezit bij de wijfjes een vrij uiteenloopenden vorm. Meestal is hij spits, zooals in fig. 14, IV, c, in eenige gevallen echter ook stomp (fig. 14, a en b), zeer zeldzaam aan het achtereinde een weinig kolfvormig aangezwollen, zooals bij fig. 14, I (1).

Papillen of een fijn spitsje heb ik aan den staart van het wijfje niet kunnen waarnemen.

Het mannetje bezit 2 spicula met een zeer duidelijk te zien accessorisch stuk (fig. 14, V) De staart draagt op zijn achtereinde een zeer fijn spitsje en ongeveer in het midden tusschen geslachtsopening en achtereinde een paar laterale papillen.

De eieren zijn ovaal (fig. 14, III) en bezitten eene lengte van gemiddeld 0.046 mm. en eene breedte van 0.023 mm.

Plaats die het in de systematiek inneemt. Van de tot nog toe bekende soorten (2) is de boven beschrevene Cephalobus zeker met C. *persegnis* Bast en C. *striatus* Bast het meest verwant. Waarin de belangrijkste

(1) Het is natuurlijk ook wel mogelijk, dat ik hier verschillende soorten onder de oogen heb gehad. Daar andere kenteekens ter onderscheiding ontbreken, schijnt het mij doelmatiger al deze kortstaartige vormen tot eene soort te brengen. (Vergl. hierover ook het zevende hoofdstuk van deze mededeeling).

(2) Cf. de Man, Monographie, p. 89.

afmetingen dezer 3 soorten van elkaar verschillen, is uit volgende tabel, waarin de door DE MAN (1) aangegeven maten in procenten zijn omgerekend, te zien.

		C. striatus Bast.	C. brevicaudatus.	C. persegnis Bast.
lengte	♀	0.66 mm.	0.63-0.71 mm	0.74 mm.
	♂	0.5 "	0.61-0.74 "	
breedte. . . .	♀	4.5—5.5% l.	4.6 % l.	4—5% l.
	♂		4.2 "	
Oesophagus lengte.	♀	25% l.	23 % l.	20—25% l.
	♂	29 "	25 "	
Staart	♀	8.3—10% l.	6.4 (5.1—7.0)	5.9 % l.
	♂	6.7—7.1 "	5.0 % l.	5.5 "

Al zoude men nu ook volgens deze cijfers eene identiteit der drie soorten voor mogelijk houden, zoo zijn toch aan den anderen kant ook eenigszins belangrijke verschillen tusschen den boven beschreven Cephalobus en de 2 soorten van BASTIAN te constateeren: Cephalobus persegnis BAST. verschilt van den boven beschreven daarin, dat ook bij het ♂ het achtereinde geen fijn spitsje bezit en verder door de door DE MAN aan het achtereinde van het ♂ waargenomene 3 prae- en 3 postanale paren van laterale papillen, terwijl ik bij C. brevicaudatus slechts een paar postanale papillen aantrof.

Cephalobus striatus BAST. heeft in tegenstelling tot C. brevicaudatus een duidelijk begrensd kopeinde met 2 papillen aan ieder der 3 lippen; verder is ook de staart inzonderheid bij het ♀ betrekkelijk slanker en draagt dikwijls een fijn spitsje, dat ik bij C. brevicaudatus slechts bij de ♂ kon vinden. Eindelijk heeft het ♂ bij C. striatus even als bij C. persegnis 6 paren van papillen aan het achtereinde.

Volgens het bovenstaande schijnt het mij niet mogelijk den in de koffiewortels gevonden Cephalobus met eene der twee genoemde soorten van BASTIAN te identificeeren en moest ik dan ook aan dit kof-

(1) l. c. p. 92 en 93.

fieaaltje een nieuwen naam geven. Met het oog op den zeer korten staart heb ik den naam *Cephalobus brevicaudatus* gekozen.

2. *Cephalobus longicaudatus* Bütschli.

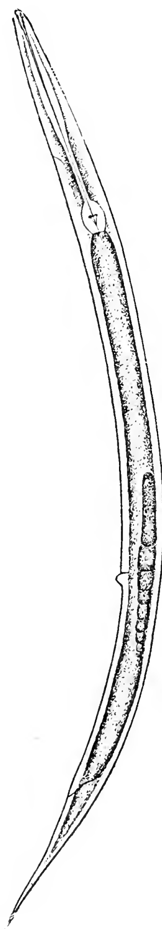


Fig. 15. Wijfje van Cephalobus longicaudatus, 178 maal vergroot.

Behalve de in het bovenstaande beschreven soort, vond ik in de koffiewortels larven en wijfjes van eene andere, die zich van gene vooral door den veel langeren puntigen staart (fig. 15) onderscheidt.

Daar nu deze soort met den door Bütschli (1) en de Man (2) beschrevenen Cephalobus longicaudatus zeer veel overeenkomst vertoont, wil ik haar ook onder dezen naam beschrijven. Om echter over de identiteitsvraag met eenige zekerheid te kunnen beslissen, zoude het noodig zijn de mannetjes, die ik tot nog toe niet heb kunnen vinden, te kennen.

De door mij gemeten wijfjes bezaten eene lengte van 0.72—0.89 mm. en eene breedte van gemiddeld 4.5°/₀ l.

Het achtereinde van den bulbus was 23°/₀ l, de vulva 61°/₀ l van het kopeinde verwijderd. De staartlengte bedroeg 14°/₀ l. Als afstand des porus excretorius van het kopeinde vond ik 16°/₀ l.

IV. Rhabditis.

Het geslacht Rhabditis onderscheidt zich van het geslacht Cephalobus voornamelijk daardoor, dat de pharynx een cylindrischen vorm bezit en gelijkmatig verdikt is (cf. fig. 16, II) en dat verder de mannetjes, zooals bij Tylenchus, eene bursa bezitten. Door het laatste kenteeken onderscheidt zich het geslacht

(1) Nova Acta Acad. Leop. Carol. 1873, Bd. 36.
(2) Monographie p. 96.

Rhabditis ook van het na verwante geslacht Plectus, dat bovendien aan het kopeinde zoogenoemde zijorganen bezit, die bij Rhabditis ontbreken.

Aangezien nu bij de vrij dikwijls in de koffiewortels aantetreffen soort van nematoden, die ik nu ga beschrijven, zijorganen niet zijn waartenemen, heb ik ze tot het geslacht Rhabditis gebracht en *Rhabditis bicornis* benoemd, ofschoon ik mannetjes tot nog toe niet heb kunnen vinden en ook de structuur van den kop van alle tot nog toe beschreven Rhabditis soorten verschilt.

Rhabditis bicornis sp. n.

Rhabditis bicornis behoort tot de kleinere nematoden, omdat de volwassen wijfjes eene lengte van slechts 0.41 mm. bereiken. Daarentegen zijn ze betrekkelijk plomp: de dikte kan namelijk volgens mijne metingen tot $6.8\,^{0}/_{0}$ bedragen. De huid vertoont eene niet zeer duidelijke dwarsstreeping en bezit vrij smalle zijmembranen.

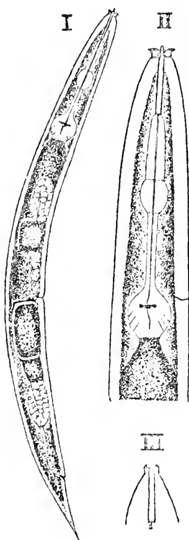


Fig. 16. Rhabditis bicornis, I. ♀; II. kopeinde van der zijde gezien; III Id. om 90° gedraaid I. 178, II. en III. 390 maal vergroot.

Aan het kopeinde ziet men, wanneer het aaltje zich in de zijligging bevindt (fig. 16, I en II), twee sterk lichtbrekende, een weinig geelachtig gekleurde en met het vooreinde een weinig naar buiten gebogene lichaampjes (lippen?), terwijl tusschen deze eene minder sterk lichtbrekende uitsteeksel zichtbaar is. Wanneer men het aaltje echter 90° draait, wat door eenen zachten tik tegen het dekglaasje gemakkelijk kan geschieden, zoo ziet men aan iedere zijde van het kopeinde (fig. 16, III) een zwak lichtbrekend hoorntje en daartusschen de geelachtig gekleurde lichaampjes.

Aan het kopeinde vindt men nu verder, zoo als reeds werd mede-

gedeeld, een cylindrische en vrij lange pharynx (fig. 16, II), die aan het achtereinde met den oesophagus in samenhang staat. Deze bezit ongeveer in het midden een zwakke aanzwelling, wordt dan aanzienlijk nauwer en eindigt in een vrij grooten bulbus.

Het achtereinde van dezen bulbus vond ik gemiddeld 24°/₀ l van het kopeinde verwijderd. De staart bezit eene lengte van 10.5 °/₀l en eindigt zeer spits. De porus excretorius bevindt zich dicht bij den bulbus; de vulva is 55°/₀l van het kopeinde verwijderd. De uterus is, zooals in fig. 16, I te zien is, dubbel en beide armen zijn aan de uiteinden omgeslagen.

V. Dorylaimus.

Tot het geslacht *Dorylaimus* behooren de grootste der tot nog toe bekende nematoden. Zoo wordt door Vanha en Stoklasa (1) aangegeven, dat *Dorylaimus incertus* de aanzienlijke lengte van 15 mm. bereiken kan. Andere soorten worden echter niet eens een mm. lang. De bij alle *Dorylaimus*-soorten voorhanden mondstekel of doorn is niet zooals bij Tylenchus aan het achtereinde verdikt en eindigt naar voren toe zeer dikwijls in een schuin vlak. Verder vindt men bij jongere dieren zeer dikwijls naast den in functie zijnde mondstekel een anderen, den zoogenoemden reservestekel (fig. 17, het onderste gedeelte), die waarschijnlijk gedurende de vervelling op het vooreinde van den ouden stekel komt te liggen. Een gevolg daarvan is, dat de mondstekel der *Dorylaimus*-soorten dikwijls eenen vrij onregelmatigen vorm bezit. De oesophagus wordt bij de meeste soorten van *Dorylaimus* naar het achtereinde toe iets breeder en vertoont in het breedere gedeelte eene meer of minder duidelijke, dwarsverloopende musculatuur. Een eigenlijke bulbus ontbreekt even zoo als een porus excretorius.

De wijze van voorkomen is bij de verschillende soorten van *Dorylaimus* eene zeer verschillende. In den laatsten tijd werd inzonderheid door Vanha en Stoklasa (2) beweerd, dat in Europa aan belangrijke cultuurgewassen door verschillende soorten van *Dorylaimus* veel kwaad wordt gedaan. In hoever dit bij den door

(1) l. c. p. 66.
(2) l. c. p. 61.

mij in de koffiewortels gevonden *Dorylaimus* het geval is, kan ik nog niet met eenige zekerheid aangeven. Te dezen aanzien kan slechts worden gezegd, dat ik deze soort, die ik den naam D. javanicus geef, in de koffiewortels meest slechts in geringe hoeveelheden heb aangetroffen en bijna zonder uitzondering slechts in wortels, die reeds vrij sterk verrot waren.



Fig. 17. Dorylaimus javanicus ♀ 78 maal vergroot; daaronder kopeinde van eene larf, 178 maal vergroot.

Dorylaimus javanicus sp. n.

Van deze soort heb ik tot nog toe slechts wijfjes kunnen vinden, wat overigens bij het geslacht *Dorylaimus* zeer dikwijls voorkomt. Zoo geeft DE MAN (1) aan, dat hij bij meer dan de helft van de door hem waargenomen vormen de mannetjes nooit gezien heeft.

Deze wijfjes hadden eene lengte van 1.1—1.3 mm. en eene breedte van gemiddeld 3.0°/₀ l. Het einde van den oesophagus was 22°/₀ l, de vulva 47°/₀ l van het kopeinde verwijderd. De aan het uiteinde haarfijne staart bezit eene lengte van 12°/₀ l. De overige eigenschappen dezer wijfjes zijn uit nevengaande afbeelding te zien.

Onze *Dorylaimus* behoort volgens de bovengenoemde gegevens tot de door DE MAN (2) onderscheiden groep B, ε. Zij is echter niet met een van de in die groep beschreven soorten te identificeeren en evenmin met de door DE MAN (3) slechts met naam aangevoerde soorten dezer groep. Eindelijk zijn ook de door VANHA en STOKLASA (4) beschreven 3 nieuwe soorten van *Dorylaimus* van onze soort gemakkelijk en zeker te onderscheiden.

(1) Monographie, p. 158.
(2) Monographie, p. 184.
(3) l. c. p. 159.
(4) l. c. p. 63—67 en 74.

VI. EENIGE OPMERKINGEN OVER DE BESTRIJDING DER AALTJESZIEKTE.

Nadat ik reeds in het voorloopig rapport de verschillende middelen heb besproken, die met meer of minder kans op een gunstig gevolg ter bestrijding der aaltjes zijn toetepassen, wil ik in dit hoofdstuk slechts eene intusschen gedane proef en eenige opmerkingen mededeelen, die misschien voor de praktijk niet zonder belang zijn.

In de eerste plaats schijnt het mij opmerkenswaardig, dat op al die plekken, waar door microscopisch onderzoek de aanwezigheid van aaltjes was aangetoond, de soelamans van Java-koffie meest reeds in het eerste of op zijn hoogst in het tweede jaar, met zeer weinige uitzonderingen, zijn afgestorven. Het schijnt mij dus verloren moeite en weggeworpen geld, wanneer men zoodanige plekken altijd weer opnieuw met Java-koffie beplant.

Daarentegen groeit de Liberiakoffie op de aaltjesplekken bijna zonder uitzondering zeer goed, slechts zeer enkele boomen ziet men hier kwijnen of langzaam afsterven, en wanneer ik ook in het wortelstelsel van zoodanige boomen, evenals bij de boven beschrevene infectieproeven in verschillende Liberiaplanten, aaltjes heb kunnen vinden, zoo behoeven toch deze uitzonderingen van het beplanten der aaltjesplekken met Liberiakoffie niet terug te houden. Het groote verschil, dat de Liberiaboomen ook in ander opzicht vertoonen, maakt het niet onwaarschijnlijk, dat ook het weerstandsvermogen tegen aaltjes bij de verscheidene individuen ongelijk is. Mogelijk is het echter ook, dat de door aaltjes aangetaste boomen door eene andere ziekte of door zekere ongunstige uitwendige voorwaarden voor de aaltjes meer vatbaar gemaakt waren.

Of de Javakoffie een bij verschillende individuen ongelijk weerstandsvermogen tegen aaltjes bezit, is niet met zekerheid te zeggen. Het herhaaldelijk waargenomen feit, dat te midden van

afgestorven soelamans een enkele of eenige boomen, zoover men naar het uiterlijk kan beoordeelen, volkomen gezond blijven, doet wel vermoeden, dat deze boomen een grooter weerstandsvermogen tegen de aaltjes bezitten. Natuurlijk is het echter ook wel mogelijk, dat hier door toeval of door eene direct niet waartenemen omstandigheid de besmetting door aaltjes is tegengegaan of belemmerd.

Slaagde men er echter ook al in Javakoffie-boomen te vinden, die een grooter weerstandsvermogen tegen de aaltjes bezitten, zoo zoude daardoor voor de praktijk direct nog niet zeer veel gewonnen zijn; want het is niet waarschijnlijk, dat dit weerstandsvermogen met het zaad ook op alle van die boom afstammende dochterplanten over zoude gaan. Veeleer zoude eerst door eene langen tijd voortgezette zorgvuldige zaadkeuze het verkrijgen van een in dit opzicht eenigzins constant ras te verwachten zijn. Daarentegen zoude wel eene vermenigvuldiging door stekken gunstige resultaten kunnen opleveren. Of deze echter in het groot zoude uittevoeren zijn, schijnt mij zeer twijfelachtig, ofschoon aan den anderen kant volgens de op verschillende koffieondernemingen opgedane ervaring de mogelijkheid van het stekken van koffie moet worden toegegeven.

Belankrijker voor de praktijk schijnt mij toe de reeds op verscheidene ondernemingen op meer of minder groote schaal toegepaste methode, volgens welke op den meer weerstandsvermogen bezittende Liberiastam een tak of top van Java-koffie geënt wordt. Dat zulks uitvoerbaar is, kan volgens de reeds opgedane ondervinding niet meer twijfelachtig zijn; ook is, wanneer het enten met de noodige zorg en zaakkennis wordt uitgevoerd, een zeer gering verlies van planten daaraan verbonden. Of echter de geënte boomen zich ook verder op even krachtige wijze zullen ontwikkelen en even gunstige oogsten zullen opleveren als de niet geënte Javakoffie-boomen, zal eerst door de uitkomsten der nu op groote schaal begonnen entproeven beslist kunnen worden. Ook dient de ervaring nog te leeren, of de geënte boomen, zooals zeer waarschijnlijk is, tegen de aaltjes hetzelfde weerstandsvermogen als de Liberiakoffie bezitten. De toekomst moet evenzoo nog leeren, welke methode van enten de meeste kans op slagen heeft, en of men het best takken, toppen of waterloten voor het enten gebruikt. Reeds

nu moet ik er echter voor waarschuwen, de geënte planten zoo diep in den grond te brengen, dat het entrijs met de aarde in aanraking komt. Al ware ook het onder den grond brengen der entplaats om andere redenen van voordeel, zoo moet ik met het oog op de aaltjes toch raden er van af te zien; deze toch zouden zeker gemakkelijk in de geënte planten kunnen indringen, wanneer door het entrijs wortels gevormd worden, die natuurlijk voor de aaltjes de vatbaarheid der wortels van Javakoffie bezitten.

Niet zonder belang is het verder ook Javakoffie op andere koffiesoorten en verwante Rubiaceeën te enten. Het is toch mogelijk, dat men op deze wijze eene soort vindt, op welke de Javakoffie nog beter groeit of die een nog grooter weerstandsvermogen tegen de aaltjes bezit dan de Liberiakoffie.

Reeds in het voorloopig rapport heb ik medegedeeld, dat voor eenige jaren op eene onderneming in het Malangsche een proef ter bestrijding der aaltjes met *ijzersulfaat* was genomen. Ik kan nu aan de vroegere opmerkingen nog toevoegen, dat de bedoelde boomen met uitzondering van eenige, die blijkbaar door overdracht hadden geleden, er nog zeer goed uitzagen.

Verleden jaar werd verder door den Administrateur van Soember-Petoeng (Malang), Jhr. M. H. van Spengler, opnieuw een proef met ijzersulfaat begonnen, waarvan ik de tot nog toe verkregen uitkomsten zoo nauwkeurig mogelijk zal mededeelen:

Einde Juni 1897 werden mij door Jhr. v. Spengler twee vrij dicht bij elkaar liggende plekken aangewezen, op welke de Javakoffie afstierf. Uit het microscopisch onderzoek van eenige van beide plekken afkomstige wortels bleek de aanwezigheid van zeer groote hoeveelheden van Tylenchus Coffeae op beide plekken.

Een van deze twee plekken, die beplant was met 90 boomen (plantwijdte 6 $\times$ 6 voet, dus $\pm$ $^{1}/_{22}$ bouw) werd daarop op de volgende wijze bewerkt: Den 2^{en} Juli werden dadap en koffieboomen met wortel en al zorgvuldig verwijderd en de bodem ter diepte van c. 60 cM. omgewerkt. De plek werd steeds van alle onkruid schoongehouden. Op den 15^{en} September werd hij ter diepte van 1/2 patjol omgewerkt. Op den 3^{en} December werd over die plek een petro-

leumblik ijzersulfaat (= ± 0.35 pic., dus per bouw ± 8 pic) gelijkmatig uitgestrooid. Op den 19en December werden er plantkuilen gemaakt en den volgenden dag na eene flinke regenbui weer gedicht en beplant (eveneens met 90 Javakoffieplanten).

De andere plek werd gedurende dezen tijd aan geene bijzondere bewerking onderworpen; hij werd slechts evenals de andere tuinen schoongehouden; verder werden er gewone plantkuilen gemaakt, die ± 2 maanden hebben opengelegen en op den 20en December met Javakoffieplanten van dezelfde bibit als de andere plek weder beplant.

Op den 18en Maart 1898 konden wij waarnemen, dat op de plek, waar geene bijzondere bewerking had plaats gehad, vele der jonge planten reeds de bladeren hadden verloren en zelfs de besten er iets kwijnend uitzagen, terwijl op de andere met ijzersulfaat behandelde plek toen geen een ziekelijke plant te vinden was. Wij hebben van de eerstgenoemde plek een zeker aantal planten, waaronder ook eenige, die er het best uitzagen, uitgetrokken en vonden bij allen de penwortel tot meer of minder dicht aan den wortelhals verrot; hetzelfde geldt ook van de meeste haarwortels slechts bij eenige vonden wij dicht aan den wortelhals nog eenige gezonde zijwortels. Daarentegen vonden wij aan eene op de met ijzersulfaat behandelde plek voorzichtig uitgegraven plant een prachtig wit wortelstelsel met talrijke eveneens witte haarwortels. Eerst nadat wij het wortelstelsel van deze plant volkomen schoongewasschen hadden, namen wij daaraan twee haarwolteltjes waar, die aan den top bruinachtig verkleurd waren.

Overeenkomstig deze met het bloote oog gedane waarnemingen bleek bij microscopisch onderzoek der bedoelde planten, dat in de twee bruinachtig verkleurde haarwortels der laatst beschreven plant eenige weinige exemplaren van Tylenchus Coffeae aanwezig waren. In zeer groote hoeveelheden vond ik deze daarentegen in alle planten, die van de andere plek afkomstig waren.

Om nu de uitkomst van deze proef aan de lezers dezer mededeeling duidelijk te kunnen laten zien, was Jhr. v. Sp. zoo vriendelijk, eene van ieder plek afkomstige plant te doen photographeeren. Eene autotypische vermenigvuldiging van deze photographie is bij deze

mededeeling (zie plaat II), gevoegd. De plant aan de rechterzijde komt van de met ijzersulfaat, die aan de linkerzijde van de niet behandelde plek.

Jhr. Van Spengler heeft mij bij deze gelegenheid nog medegedeeld, dat onder vier van de met ijzersulfaat behandelde plek afkomstige planten er slechts eene was, die op een der haarworteljes een bruin plekje had, terwijl bij de 3 anderen met het bloote oog niets van dien aard te zien was.

Is het nu ook volgens het bovenstaande zeer waarschijnlijk, dat door verwijderen van koffie, dadap en onkruid, grondbewerking en bestrooien met ijzersulfaat eene zeer sterke vermindering der aaltjes kan worden verkregen, zoo dient toch aan den anderen kant in het oog te worden genomen, dat ook van de zoo behandelde plek nog niet alle aaltjes verdwenen waren. Wel is waar is het zeer wel mogelijk, dat deze aaltjes eerst later van buiten op de bedoelde plek gekomen zijn; want ofschoon nog drie rijen van gezond uitziende boomen mede gerooid waren, bleek toch later, dat buiten de plek nog eenige boomen door de aaltjes waren aangetast. Met het oog op eene eventueele besmetting is het van belang te weten, dat in Maart aan de bovenkant van de zwak hellende plek twee koffieboomen van den oorspronkelijken aanplant begonnen aftesterven. Verder is opmerkenswaardig, dat van de vier later uitgehaalde plantjes juist die plant verdachte plekken aan hare haarwortels vertoonde, die het dichtst bij de bovengenoemde twee uitstervende koffieboomen stond, terwijl de meer daarvan verwijderde gezond bleken.

Het schijnt dus niet onwaarschijnlijk, dat de op de met ijzersulfaat behandelde plek waargenomen vrij onbeduidende ziekteverschijnsels door eene latere besmetting, b. v. door regenwater, veroorzaakt zijn, maar of dit werkelijk heeft plaats gehad, is nu niet meer uit te maken.

Met allen nadruk moet ik echter ervoor waarschuwen, reeds nu, naar aanleiding der boven beschreven proeven, ijzersulfaat *in het groot* ter bestrijding der aaltjes toetepassen. Mag het ook volgens de twee tot nog toe genomen proeven als waarschijnlijk gelden, dat door ijzersulfaat het aantal der in den grond aanwezige aaltjes kan worden verminderd, zoo zijn toch zeker nog voortgezette proeven noodig, om in dit opzicht tot vaststaande conclusies te geraken.

Vooral schijnt het mij nog twijfelachtig, of door ijzersulfaat eene volkomene bescherming van den nieuwen aanplant tegen de besmetting door aaltjes is te verkrijgen. Natuurlijk zal men echter des te sneller in dit opzicht tot afdoende resultaten geraken, naarmate meer proeven genomen worden, en ik zoude allen, die zoodanige proeven zullen nemen of genomen hebben, voor eene nauwkeurige mededeeling over den aard der proefneming en de daardoor verkregen resultaten zeer dankbaar zijn. Bij al zulke proeven is het zeer gewenscht alles wat op de bedoelde plekken verricht wordt, dadelijk nauwkeurig opteteekenen.

Verder schijnt het mij raadzaam toe bij deze proeven te beginnen met de koffie zoo veel mogelijk met wortels en al te verwijderen. Het is het best de wortels terstond op de plaats zelve te verbranden. Waarschijnlijk is het verder ook raadzaam, op de bedoelde plek ook den dadap te verwijderen en ze van onkruid schoon te houden. De aard der grondbewerking en de hoeveelheid van het in den grond te brengen ijzersulfaat doet men goed zoo veel mogelijk te varieeren. Misschien is het ook de moeite waard, met nog eenige andere giftige stoffen, zooals petroleum, gasoline, creoline, gaswater, benzine en kopersulfaat eenige proeven te nemen. Eindelijk moet ook nog door proeven worden uitgemaakt, in hoever het laten braakliggen op zich zelf reeds zonder toevoeging van vergiftige stoffen eene vermindering der aaltjes veroorzaakt.

Het doel van al deze proeven moet zijn, *den door aaltjes besmetten grond weer beplantbaar voor Javakoffie te maken.* Dat men er in slagen zoude, *een middel te vinden, waardoor eens aangetaste planten weer gezond gemaakt kunnen worden, schijnt mij zeer onwaarschijnlijk.* Ik breng in herinnering, dat de aaltjes van de jonge haarwortels uit, zeer snel in den schors der oudere wortels geraken, waar zij zich onder eene betrekkelijk moeielijk te passeeren kurklaag bevinden en dus ook voor vergiftige stoffen weinig toegankelijk moeten zijn. Het is dus niet waarschijnlijk, dat door aaltjes aangetaste planten door toevoegen van ijzersulfaat weer gezond gemaakt kunnen worden.

Ook het *bemesten* kan volgens hetgeen ik tot nog toe gezien heb, het afsterven der aaltjes-zieke planten op zijn hoogst vertragen, niet

echter geheel voorkomen; want mag ook door de bemesting eene krachtiger ontwikkeling der nog gezonde en eene vorming van nieuwe wortels worden veroorzaakt, zoo zullen toch wel de aaltjes steeds verder en verder in het wortelstelsel dringen, tot dat zij in den wortelhals gekomen de vorming van nieuwe wortels onmogelijk maken.

VII. EENIGE CULTUURPROEVEN MET DEN CEPHALOBUS BREVICAUDATUS.

Terwijl ik tot nog toe in weerwil van talrijke proeven niet erin geslaagd ben, eene voor Tylenchus Coffeae geschikte cultuurmethode te vinden, heb ik in dit opzicht met Cephalobus brevicaudatus, die zooals reeds op bladz. 46 werd medegedeeld, binnen de koffiewortels ook in zeer groote hoeveelheden is te vinden, zeer gunstige uitkomsten verkregen, waarover ik in dit hoofdstuk een en ander wensch mede te deelen.

Als cultuurvloeistof heb ik bij deze proeven in de eerste plaats een afkooksel van den wortelschors van oude koffieboomen gebruikt. Gedeeltelijk heb ik hiertoe versche wortels gebezigd, gedeeltelijk ook droge, zonder een verschil te kunnen waarnemen. De concentratie van het afkooksel was zoodanig, dat het eene lichbruine kleur, ongeveer zoo als roode portwijn, bezat; nauwkeurige gegevens kan ik in dit opzicht niet verstrekken en schijnen ook niet noodig. Ten einde een bederven door bacteriën, schimmels enz. te voorkomen, heb ik het afkooksel altijd in gesteriliseerde en door watteproppen afgesloten flesschen bewaard en evenals de cultuurmedia voor bacteriën door verwarmen in den *Koch*'schen stoomsterilisator gesteriliseerd.

Behalve met dit koffieschorsafkooksel heb ik ook nog met een afkooksel van humusrijken grond eenige proeven genomen en heb ook hierin eene vrij krachtige ontwikkeling van Cephalobus kunnen waarnemen.

Voor de cultuur heb ik aanvankelijk platte glazen schalen, die door een glazen deksel worden afgesloten, zoogenoemde *Petri*-schalen gebruikt. Deze worden, zooals alle met de nematoden in aanraking komende instrumenten op de gewone wijze door verwarming gesteriliseerd. Wel is waar was het mij toch niet mogelijk de cultuur volkoming vrij van bacteriën en andere schimmels te houden, omdat het zaadmateriaal niet vrij van andere organismen

was te verkrijgen. Maar ik kon zoo ten minste alle nematoden behalve die, welke ik opzettelijk in de cultures bracht, buitensluiten.

Nadat ik nu verscheidene uit eene aaltjeszieke koffiewortel afkomstige nematoden in de met het koffieschorsafkooksel gevulde Petrischalen had gebracht en deze schalen na eenige weken onderzocht, vond ik daarin slechts alleen nog Cephalobus brevicaudatus in leven. Deze was in twee schalen in zeer groote hoeveelheid aanwezig en had zich dus zeker gedurende de cultuur vermenigvuldigd.

Ik heb daarop van deze cultures weer nieuwe cultures gemaakt en kon hierin reeds na 8 dagen zeer talrijke eieren waarnemen. Na eene reis van 3 weken herwaarts teruggekeerd, vond ik een zeer groot aantal meer of minder volkomen ontwikkelde exemplaren Cephalobus in mijne schaaltjes. Gedeeltelijk maakten zij ook nog vrij vlugge bewegingen, zagen er echter uitgehongerd uit, daar bijna alle sterk lichtbrekende stoffen, die het inwendige van het normale diertje met uitzondering van het kopeinde bijna ondoorschijnend maken, waren verdwenen.

Inderdaad verkregen ook deze Cephalobus-individuen, nadat ik ze in een nieuw afkooksel had overgebracht, weer het normale uiterlijk en begonnen op nieuw eieren te leggen. Met de uit deze cultuur afkomstige aaltjes heb ik eenige proeven genomen, met het doel op eenige vragen een bepaald antwoord te verkrijgen.

Het eerst heb ik nagegaan, hoeveel eieren een Cephalobuswijfje in staat is te leggen. Ik isoleerde daartoe volgens de op bladz. 12 beschrevene methode enkele dieren en bracht ze, om den geheelen cultuurdruppel gemakkelijk onder het microscoop te kunnen doorzoeken, niet in eene „schaal van Petri,” maar in eene zoogenoemde embryoschaal, d.w.z. glazen blokjes van 4 cM. vierkant en 5 mM. dik met een groote ingeslepen sleuf aan de oppervlakte. In deze wordt eene met het microscoop gemakkelijk te doorzoeken hoeveelheid van de aaltjes bevattende vloeistof gebracht. Wanneer men niet onderzoekt, wordt alles met een dekglaasje bedekt. Van de verscheidene op deze wijze genomen proeven moge er hier eene iets nader worden beschreven. Bij deze werd *een* geslachtsrijp wijfje den 20^{en} April 98 geisoleerd; den 21^{en} April waren reeds 10 eieren door dit aaltje gelegd, op den 23^{en} April telde ik 10 jonge dieren en minstens 50 eieren,

op den 26[en] April waren er ± 70 jonge dieren en ± 30 eieren voorhanden.

De jonge aaltjes waren van zeer verschillende grootte, bij eenigen was reeds de vorming der vrouwelijke geslachtsorganen begonnen; den volgenden dag waren er zelfs reeds eieren in de jonge aaltjes waartenemen en het is zeker daaraan toeteschrijven, dat op den 28[en] April het getal der in de cultuur aanwezige eieren wederom zeer aanzienlijk was toegenomen.

De vruchtbaarheid van Cephalobus is dus blijkbaar eene zeer groote, want in een tijdruimte van 6 dagen had een enkel wijfje minstens 100 eieren gelegd. Verder volgt reeds uit den bovenbeschreven proef, dat de geheele ontwikkelingsgeschiedenis van het aaltje in eenen betrekkelijk korten tijd verloopt. Immers uit de op den 20[en] en 21[en] gelegde eieren waren op den 27[en] reeds geslachtsrijpe dieren gevormd. Hetzelfde resultaat verkreeg ik ook bij eene andere proef, bij welke 5 zeer jonge aaltjes, die zich uit 2 tot 3 dagen tevoren gelegde eieren ontwikkeld hadden, geïsoleerd werden. Vijf dagen later hadden deze 50 en op den volgenden dag over de 200 eieren gelegd, dus gemiddeld ieder dier meer dan 40.

Wij kunnen dus als bewezen aannemen dat deze Cephalobus onder de boven beschrevene — zeker vrij gunstige — cultuurvoorwaarden, in 7—8 dagen zijnen geheelen ontwikkelingsgang van ei tot ei kan volbrengen en daarop in wederom 7 dagen 100 eieren leggen. Het is wel niet noodig er speciaal op te wijzen, dat bij eene zoodanige vruchtbaarheid binnen betrekkelijk korten tijd een zeer groot aantal van aaltjes uit een enkel moederdier kan ontstaan.

Verder was het mij ook opgevallen, dat ik bij mijne culturen nooit een mannelijken Cephalobus kon vinden, terwijl ik deze in de koffiewortels vrij dikwijls heb aangetroffen. Het was derhalve waarschijnlijk, dat de vrouwelijke Cephalobus ook zonder voorafgaande bevruchting eieren kunnen leggen, ofschoon zoodanig feit („parthenogenesis") voor de nematoden, voor zoo ver mij bekend, nog niet is aangetoond; wèl echter voor andere dieren, zoo volgens A. Lang (1) voor de Bryozoën en Rotatoriën.

Daar het nu echter wel mogelijk was, dat ik bij de betrekke-

(1) Lehrbuch der vergleichenden Anatomie. Jena 1888, p. 268.

lijk groote cultuurschalen eenige mannelijke Cephalobus over het hoofd had gezien, was het blijkbaar noodig eenige zóó jonge dieren te isoleeren, dat bij hen de sexualorganen nog niet waren gevormd, zoodat eene paring niet voor de isoleering kon hebben plaats gehad en dan te onderzoeken of ook hier uitsluitend vrouwelijke individuën tot ontwikkeling kwamen en of deze dan eveneens eieren konden voortbrengen. Inderdaad heb ik nu bij eenige zoodanig genomen proeven, bij welke de aaltjes in de boven beschrevene glazen blokjes werden geïsoleerd, altijd afwezigheid van mannelijke aaltjes en vorming van talrijke eieren door de gesamenlijke vrouwelijke individuen kunnen constateeren. Zoo heb ik mij inzonderheid bij de reeds op p. 62 beschrevene proef met volle zekerheid ervan kunnen overtuigen, dat de bedoelde 5 jonge dieren gedurende de isoleering nog geene geslachtsorganen hadden gevormd en dat zij later allen tot vrouwelijke exemplaren werden, die dus zonder voorafgaande paring het groot getal eieren hebben gelegd.

Het kan dus niet worden betwijfeld, dat *parthenogenese bij de Nematoden kan voorkomen.*

Eene andere vraag, waarop met behulp der cultuur een afdoend antwoord kan worden verkregen, is die, in hoever de verschillende kenteekenen, die o.a. ter onderscheiding der verschillende soorten worden gebruikt, constant zijn of niet.

Bij de beschrijving van de Cephalobus (p. 47) heb ik reeds daarop opmerkzaam gemaakt, dat de vorm van den staart bij anders blijkbaar gelijksoortige dieren verschillen vertoont en wel dat hij bij eenige dieren zeer spits, bij andere meer of minder stomp eindigt. Juist hierover heb ik nu reeds eenige proeven genomen, waarbij ik echter tot nog toe geene variabiliteit in dit opzicht heb kunnen waarnemen.

Zoo heb ik ook b. v. bij den op p. 61 beschreven proef, bij welke het moederdier een zeer spitsen staart bezat, slechts dieren tot ontwikkeling zien komen, die eveneens van een zeer spitsen staart waren voorzien, terwijl ik aan den anderen kant zeer stompstaartige wijfjes (zooals fig. 14, I en IV, p. 46) tot nog toe ook slechts zeer stomstaartige nakomelingen heb zien voortbrengen.

Natuurlijk is het echter wenschelijk deze cultures over een grooter

getal van generaties voorttezetten, wat ik het voornemen heb te doen.

De bedoelde vraag is toch ook voor de praktijk niet geheel zonder belang, want wanneer men de voor de koffieboomen schadelijke en niet schadelijke soorten van aaltjes met zekerheid wil onderscheiden, moet men natuurlijk weten, welke vormen, als tot een zelfde soort behoorende, zijn te beschouwen.

Van de grootste beteekenis voor de praktijk kunnen echter de cultures der verschillende Nematoden daardoor worden, doordat zij het mogelijk maken, infectieproeven met *één enkele* soort van Nematode te nemen en zoo indien men zaad en aarde te voren heeft gesteriliseerd, alle anderen soorten buiten te sluiten. Op deze wijze zal het mogelijk zijn, voor elke soort van Nematode uit te maken, of zij schadelijk is of niet. Eenige reeds met de cultures van Cephalobus brevicaudatus genomen voorloopige proeven hebben tot nog toe een negatief resultaat gegeven, deze proeven zijn evenwel nog niet voldoende, om reeds nu de volkomen onschadelijkheid van de soort in quaestie als bewezen aan te nemen.

Hiervoor zijn nog meerdere proeven noodig, die ik zoo spoedig mogelijk denk te nemen. Vooral zal ik echter nog beproeven, eene ook voor de overige soorten van Nematoten, bovenal voor Tylenchus Coffeae, geschikte cultuurmethode te vinden, om dan ook met dezen geheel exacte infectieproeven te nemen.

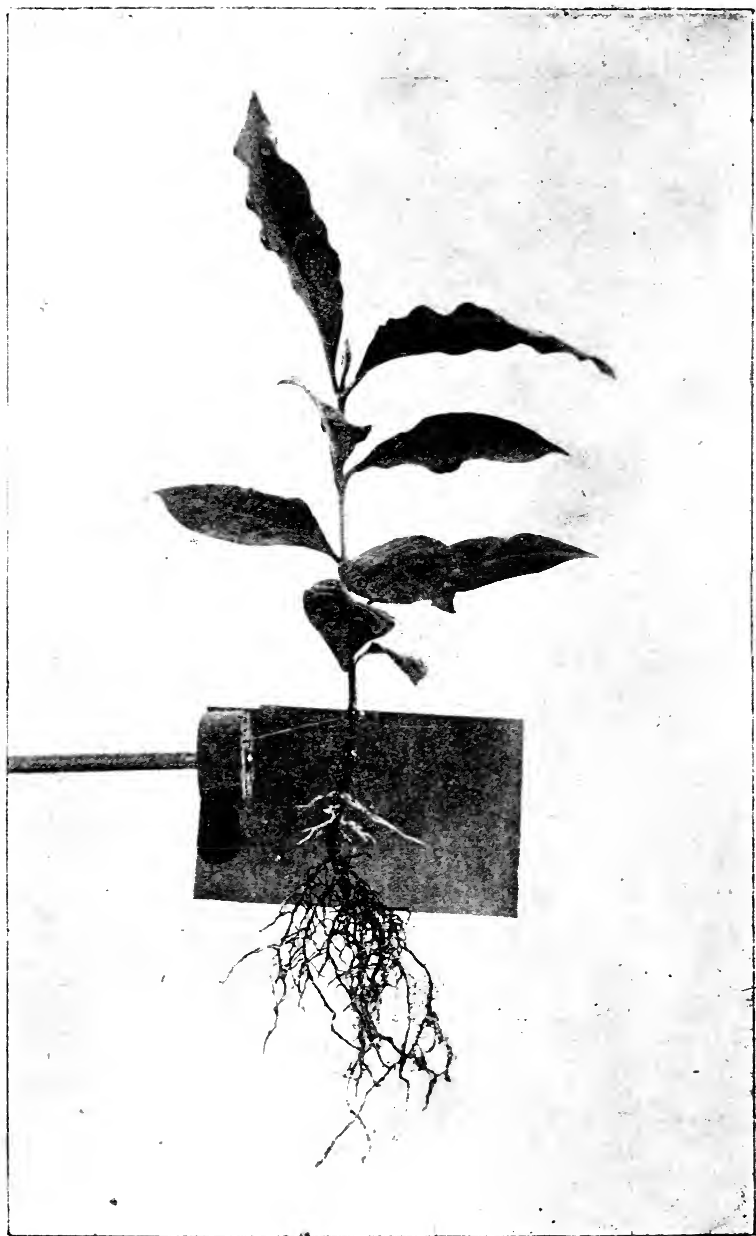
Verklaring der platen.

Plaat I.

Coffea arabica. Eene te voren gezonde plant, werd 6 maanden na de infectie met aaltjes bevattende wortelstukken gephotographeerd. Bijna het geheele wortelstelsel is donker en afgestorven. Vergel. bldz. 38.

Plaat II.

Twee koffieplanten van Soember Petoeng. De plant rechts is van een aaltjesplek afkomstig, die met ijzersulfaat was bestrooid, de andere van de contrôle plek, die *niet* met ijzersulfaat behandeld was (vergl. bldz. 56.)



Autotyp. v. C. Lang.



Autotyp. v. C. Lang.

XXVII

MEDEDEELINGEN UIT 'S LANDS PLANTENTUIN.

Van deze belangrijke serie verscheen het volgende:

No. 1. W. Burck, Rapport omtrent een onderzoek naar de Getah-pertja producerende boomsoorten in de Padangsche Bovenlanden. Bat. 1884. *f* 1.—
„ 2. M. Treub, Onderzoekingen over sereh-ziek suikerriet gedaan in 's Lands Plantentuin te Buitenzorg. Batavia, 1885 . . . . . . „ 0.75
„ 3. W. Burck, Minjak Tengkawang en andere weinig bekende plantaardige vetten uit Nederl.-Indië. Uitverkocht. . . . . „ —.—
„ 4. W. Burck, Over de koffiebladziekte en de middelen om haar te bestrijden. Dl. I. Uitverkocht . . . . „ —.—
„ 5. W. Burck. Over de koffiebladziekte en de middelen om haar te bestrijden. II. 1889. Uitverkocht . . . . „ —.—
„ 6. M. Treub, Geschiedenis van 's Lands Plantentuin te Buitenzorg *Eerste gedeelte.* Bat. 1889 . . . . „ 1.25
„ 7. M. Greshoff, Eerste verslag van het onderzoek naar de plantenstoffen van Nederlandsch-Indië. 1890. Uitverkocht . . . . „ —.—
„ 8. J. M. Janse, Proeve eener verklaring van sereh-verschijnselen. Bat. 1891 . . . . „ 0.70
„ 9. J. M. Janse, Het voorkomen van bacterien in suikerriet. Bat 1891. Met 1 plaat . . . . „ 0.75
„ 10. M. Greshoff, Beschrijving der giftige en bedwelmende planten bij de vischvangst in gebruik. Bat. 1893. . . . . „ 2.—
„ 11. S. H. Koorders en Th. Valeton, Bijdrage No. 1 tot de kennis der boomsoorten van Java. Bat. 1894 . . . . „ 4.—
„ 12. S. H. Koorders, Plantkundig woordenboek voor de boomen van Java. Met korte aanteekeningen over de bruikbaarheid van het hout. Bat. 1894. . . . . „ 3.—
„ 13. W. G. Boorsma, Eerste resultaten van zijn verrichte onderzoek naar de plantenstoffen van Nederl. Indië. Bat. 1894 . . . . . „ 2.50
„ 14. S. H. Koorders en Th. Valeton, Bijdrage No. 2 tot de kennis der boomsoorten van Java. Bat. 1895 . . . . „ 3.50
„ 15. J. van Breda de Haan, De bibitziekte in de Deli-Tabak veroorzaakt door phytophthora nicotianae. Bat. 1896. Met plaat . . „ 3.50
„ 16. S. H. Koorders en Th. Valeton, Bijdrage No. 3 tot de kennis der boomsoorten van Java. Bat. 1896 . . . . „ 4.—
„ 17. S. H. Koorders en Th. Valeton, Bijdrage No. 4 tot de kennis der boomsoorten van Java. Bat. 1896 . . . . „ 4.—
„ 18. W. G. Boorsma, Nadere resultaten van het door hem verrichte onderzoek naar de planten van Nederl. Indië. Bat. 1897 . . . „ 3.50
„ 19. S. H. Koorders, Reis Minahassa. *Ter perse.*
„ 20. J. C. Koningsberger, De dierlijke vijanden der koffiecultuur op Java. Deel I. Bat. 1897. Met 6 platen. . . . . „ 5.—
„ 21. A. v. Bijlert, Onderzoek van eenige grondsoorten in Deli. Bat. 1897. „ 2.—
„ 22. J. C. Koningsberger, Eerste overzicht der schadelijke en nuttige insecten van Java. Bat. 1898 . . . . „ 2.—
„ 23. J. van Breda de Haan, Regenval en reboisatie in Deli. Bat. 1898. „ 4.50
„ 24. J. G. Kramers, Waarnemingen en beschouwingen naar aanleiding van eene reis in de koffie. Batavia, 1898 . . . . „ 5.—
„ 25. M. Greshoff, Tweede vervolg van het onderzoek naar de plantenstoffen van Nederlandsch-Indië. *Ter perse.*
„ 26. A. van Bijlert, Onderzoek van eenige grondsoorten in Deli (Vervolg van No. 21). 1898. . . . . „ 3.50
„ 27. Prof. Dr. A. Zimmermann, De Nematoden der koffiewortels . . . . „ 3.50

☞ Te bekomen voorzoover niet uitverkocht bij

G. KOLFF & Co.

Batavia en Weltevreden.